



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA EFICACIA DEL
DESINFECTANTE TEGO 51 EMPLEADO EN EL PROCESO DE
LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LA SACHETeadora
EFFYTEC EN GINSBERG ECUADOR S.A.”**

Trabajo de titulación presentado para optar por el grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: COLCHA LLANGA JUAN CARLOS

TUTOR: Dra. ELIZABETH ESCUDERO

Riobamba- Ecuador

2016

©**2016**, Juan Carlos Colcha Llanga

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: **“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA EFICACIA DEL DESINFECTANTE TEGO 51 EMPLEADO EN EL PROCESO DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LA SACHETEADORA EFFYTEC EN GINSBERG ECUADOR S.A.”**, de responsabilidad del señor Juan Carlos Colcha Llanga, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación:

FIRMA

FECHA

Dra. Elizabeth Escudero

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Cecilia Toaquiza

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

BQF. Fausto Contero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA

SISBIB ESPOCH

NOTA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Juan Carlos Colcha Llanga** portador de la cédula de ciudadanía N° **0604100669** declaro que los resultados obtenidos en el Trabajo de Titulación, previo la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico son absolutamente originales, auténticos y personales.

En tal virtud que el contenido, las conclusiones y los efectos legales y académicos que se desprenden del trabajo de titulación y luego de la redacción de este documento son y serán de mi sola y exclusiva responsabilidad legal y académica.

Juan Carlos Colcha Llanga

C. I.: 0604100669

DEDICATORIA

A Dios por ser la luz que siempre guía que camino.

A mis padres Alfredo e Hilda quienes son el tesoro más valioso que me ha dado la vida y por ser la fuente de inspiración de todas mis metas alcanzadas.

A mis hermanos Javier, Mónica, Alex y Jhon por su apoyo incondicional durante la realización de este proyecto.

Juan Carlos

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la bendición de tener a mis padres Alfredo y Hilda quienes han sido la fuente de inspiración para culminar todas las metas que me he propuesto, gracias a ellos por forjarme a ser una buena persona.

A mis hermanos Javier, Mónica, Alex y Jhon quienes han estado siempre a mi lado apoyándome en los buenos y malos momentos, siendo mi fortaleza y motivación para alcanzar cada una de mis metas.

A mi tutora la Dra. Elizabeth Escudero por su valiosa colaboración y apoyo durante la realización del presente trabajo de titulación.

A Ginsberg Ecuador S.A por permitirme desarrollar este proyecto en sus instalaciones, de manera especial al área de Control de Calidad quienes fueron un gran apoyo y me supieron guiar para la culminación de este proyecto.

Juan Carlos

TABLA DE CONTENIDO

| CONTENIDO | Páginas |
|-------------------------|---------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | x |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS..... | xii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xiv |
| ÍNDICE DE ANEXOS..... | xv |
| RESUMEN..... | xvi |
| SUMMARY..... | xvii |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |

CAPÍTULO I

| | | |
|------------------|---|------------------|
| 1. | MARCO TEÓRICO REFERENCIAL..... | 5 |
| 1.1 | Industria Farmacéutica..... | 5 |
| 1.2 | Laboratorio Farmacéutico Ginsberg Ecuador S.A..... | 6 |
| 1.3 | Buenas Prácticas de Manufactura en Industria Farmacéutica..... | 6 |
| 1.4 | Limpieza y Desinfección..... | 7 |
| 1.5 | Desinfectantes..... | 8 |
| 1.5.1 | <i>Características de un buen desinfectante.....</i> | <i>9</i> |
| 1.5.1.1 | <i>Actividad antimicrobiana.....</i> | <i>9</i> |
| 1.5.1.2 | <i>Concentracion del agente.....</i> | <i>9</i> |
| 1.5.1.3 | <i>Solubilidad.....</i> | <i>9</i> |
| 1.5.1.4 | <i>Estabilidad.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.1.5 | <i>Homogeneidad.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.1.6 | <i>Toxicidad.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.1.7 | <i>Capacidad detergente.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.1.8 | <i>Disponibilidad.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.2 | <i>Tipos de desinfectantes y antisépticos.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.2.1 | <i>Químicos.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.2.1.1 | <i>Aldehídos.....</i> | <i>10</i> |
| 1.5.2.2 | <i>Orgánicos.....</i> | <i>11</i> |
| 1.5.2.2.1 | <i>Alcoholes.....</i> | <i>11</i> |
| 1.5.2.2.2 | <i>Fenol y compuestos fenólicos.....</i> | <i>12</i> |
| 1.5.2.2.3 | <i>Ácidos y álcalis.....</i> | <i>12</i> |

| | | |
|--------------------|---|----|
| 1.5.2.2.4 | <i>Peróxido de hidrógeno</i> | 12 |
| 1.5.2.2.5 | <i>Agentes oxidantes halogenados</i> | 13 |
| 1.5.2.2.6 | <i>Amonios cuaternarios</i> | 13 |
| 1.5.2.2.6.1 | <i>Cloruro de Benzalconio</i> | 14 |
| 1.5.2.2.6.2 | <i>Sani-t-10</i> | 14 |
| 1.6 | Análisis teórico de la actividad de los desinfectantes | 15 |
| 1.7 | Tego 51 | 16 |
| 1.8 | Niveles de desinfección | 17 |
| 1.9 | Factores que afectan la eficacia de los productos | 17 |
| 1.9.1 | <i>Desinfectantes</i> | 17 |
| 1.9.2 | <i>Agua</i> | 18 |
| 1.9.3 | <i>Condiciones de crecimiento y tipo de microorganismos</i> | 19 |
| 1.9.4 | <i>El pH</i> | 19 |
| 1.9.5 | <i>Temperatura</i> | 19 |
| 1.9.6 | <i>Tiempo de contacto</i> | 20 |
| 1.9.7 | <i>Concentración</i> | 20 |
| 1.9.8 | <i>Formulación</i> | 20 |
| 1.10 | Mecanismo de acción de los Antisépticos y Desinfectantes | 21 |
| 1.11 | Resistencia microbiana a los Desinfectantes | 22 |
| 1.11.1 | <i>Resistencia de bacterias Gram positivas</i> | 22 |
| 1.11.2 | <i>Resistencia de bacterias Gram negativas</i> | 22 |
| 1.11.3 | <i>Resistencia de las esporas</i> | 23 |
| 1.11.4 | <i>Resistencia de hongos</i> | 23 |
| 1.11.5 | <i>Rotación de desinfectantes</i> | 23 |
| 1.11.6 | <i>Mecanismo de la actividad del desinfectante</i> | 24 |
| 1.12 | Características técnicas y descripción del equipo | 24 |
| 1.12.1 | <i>Descripción del equipo</i> | 26 |
| 1.13 | Puntos Críticos | 26 |
| CAPÍTULO II | | |
| 2. | MARCO METODOLÓGICO | 28 |
| 2.1 | Lugar de Realización | 28 |
| 2.2 | Materiales, equipos y reactivos | 28 |
| 2.2.1 | <i>Materiales de laboratorio</i> | 28 |
| 2.2.2 | <i>Equipos</i> | 28 |
| 2.2.3 | <i>Medios de cultivo y Reactivos</i> | 29 |

| | | |
|------------------------------|---|----|
| 2.2.4 | <i>Material de estudio</i> | 29 |
| 2.3 | Técnicas y métodos | 30 |
| 2.3.1 | <i>Muestreo de la Sacheteadora Effytec</i> | 30 |
| 2.3.1.1 | <i>Puntos de muestreo y toma de muestra</i> | 30 |
| 2.3.2 | <i>POE para el análisis microbiológico de equipos</i> | 31 |
| 2.3.2.1 | <i>Metodología/Procedimiento</i> | 31 |
| 2.3.3 | <i>POE para Identificación de microorganismos por Tinción Gram</i> | 33 |
| 2.3.3.1 | <i>Metodología/Procedimiento</i> | 33 |
| 2.3.4 | <i>POE para identificación morfológica de microorganismos</i> | 33 |
| 2.3.4.1 | <i>Metodología/Procedimiento</i> | 33 |
| 2.4 | Determinación del tamaño muestral | 34 |
| 2.5 | Unidad de análisis o muestra | 34 |
| 2.6 | Criterios de aceptación | 35 |
| CAPÍTULO III | | |
| 3. | MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS... | 36 |
| 3.1 | Muestreo de los PCC antes de utilizar Tego 51 (1^{er} muestreo) | 36 |
| 3.2 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram (1^{er} muestreo) | 38 |
| 3.3 | Identificación de hongos y levaduras (1^{er} muestreo) | 39 |
| 3.4 | Identificación morfológica de microorganismos (1^{er} muestreo) | 40 |
| 3.5 | Muestreo de los PCC antes de utilizar Tego 51 (2^{do} muestreo) | 41 |
| 3.6 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram (2^{do} muestreo) | 43 |
| 3.7 | Identificación de hongos y levaduras (2^{do} muestreo) | 44 |
| 3.8 | Identificación morfológica de microorganismos (2^{do} muestreo) | 45 |
| 3.9 | Muestreo de los PCC antes de utilizar Tego 51 (3^{er} muestreo) | 47 |
| 3.10 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram (3^{er} muestreo) | 48 |
| 3.11 | Identificación de hongos y levaduras (3^{er} muestreo) | 49 |
| 3.12 | Identificación morfológica de microorganismos (3^{er} muestreo) | 50 |
| 3.13 | Limpieza y desinfección con Tego 51 (1^{er} muestreo) | 52 |
| 3.14 | Limpieza y desinfección con Tego 51 (2^{do} muestreo) | 58 |
| 3.15 | Limpieza y desinfección con Tego 51 (3^{er} muestreo) | 64 |
| CONCLUSIONES | | 70 |
| RECOMENDACIONES | | 71 |
| GLOSARIO | | |
| BIBLIOGRAFÍA | | |
| ANEXOS | | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabla 1-1 | Exponentes de concentración de Antisépticos, Desinfectantes y Esterilizantes comunes..... | 16 |
| Tabla 2-1 | Características físico químicas del Tego 51..... | 17 |
| Tabla 3-1 | Desinfectantes y antisépticos más comunes..... | 21 |
| Tabla 4-1 | Mecanismo de la actividad de los desinfectantes contra células microbianas..... | 24 |
| Tabla 5-1 | Especificaciones Generales del Equipo..... | 25 |
| Tabla 6-1 | Parámetros de funcionamiento..... | 25 |
| Tabla 1-2 | Preparación de medios..... | 32 |
| Tabla 2-2 | Muestreo de los equipos..... | 32 |
| Tabla 3-2 | Análisis de las muestras..... | 33 |
| Tabla 4-2 | Análisis microscópico de las colonias..... | 33 |
| Tabla 5-2 | Siembra de las colonias en medios selectivos..... | 34 |
| Tabla 1-3 | Resultados del 1 ^{er} muestreo de los Puntos Críticos de Control..... | 36 |
| Tabla 2-3 | Resultados de la Tinción Gram 1 ^{er} muestreo..... | 38 |
| Tabla 3-3 | Resultados de la coloración con Azul de Lactofenol..... | 39 |
| Tabla 4-3 | Resultados de la Identificación Morfológica de microorganismos 1 ^{er} muestreo...40 | |
| Tabla 5-3 | Resultado del 2 ^{do} muestreo de los Puntos Críticos de Control..... | 41 |
| Tabla 6-3 | Resultados de la Tinción Gram 2 ^{do} muestreo..... | 43 |
| Tabla 7-3 | Resultados de la coloración con azul de Lactofenol 2 ^{do} muestreo..... | 44 |
| Tabla 8-3 | Resultados de la Identificación Morfológica de microorganismos 2 ^{do} muestreo...45 | |
| Tabla 9-3 | Resultados del 3 ^{er} muestreo de los Puntos Críticos de Control..... | 47 |
| Tabla 10-3 | Resultados de la Tinción Gram 3 ^{er} muestreo..... | 48 |
| Tabla 11-3 | Resultados de la coloración con Azul de Lactofenol 3 ^{er} muestreo..... | 49 |
| Tabla 12-3 | Resultados de la Identificación Morfológica de microorganismos 3 ^{er} muestreo...50 | |
| Tabla 13-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %..... | 52 |
| Tabla 14-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %..... | 53 |
| Tabla 15-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %..... | 55 |
| Tabla 16-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %..... | 56 |
| Tabla 17-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 57 |
| Tabla 18-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,5 %..... | 58 |
| Tabla 19-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,5 %..... | 59 |
| Tabla 20-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,5 %..... | 61 |
| Tabla 21-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,5 %..... | 62 |

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabla 22-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> luego de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 63 |
| Tabla 23-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> luego de utilizar Tego 51 al 1,0 %..... | 64 |
| Tabla 24-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> luego de utilizar Tego 51 al 1,0 %..... | 65 |
| Tabla 25-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> luego de utilizar Tego 51 al 1,0 %..... | 66 |
| Tabla 26-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> luego de utilizar Tego 51 al 1,0 %..... | 67 |
| Tabla 27-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> luego de utilizar Tego 51 al 1,0 %..... | 68 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | | |
|---------------------|--|----|
| Gráfico 1-3 | Crecimiento de microorganismos 1 ^{er} muestreo..... | 37 |
| Gráfico 2-3 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram 1 ^{er} muestreo..... | 38 |
| Gráfico 3-3 | Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol..... | 39 |
| Gráfico 4-3 | Identificación morfológica de microorganismos 1 ^{er} muestreo..... | 40 |
| Gráfico 5-3 | Crecimiento de microorganismos 2 ^{do} muestreo..... | 42 |
| Gráfico 6-3 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram 2 ^{do} muestreo..... | 43 |
| Gráfico 7-3 | Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol..... | 44 |
| Gráfico 8-3 | Identificación morfológica de microorganismos 2 ^{do} muestreo..... | 46 |
| Gráfico 9-3 | Crecimiento de microorganismos 3 ^{er} muestreo..... | 47 |
| Gráfico 10-3 | Identificación de microorganismos por Tinción Gram 3 ^{er} muestreo..... | 48 |
| Gráfico 11-3 | Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol..... | 49 |
| Gráfico 12-3 | Identificación morfológica de microorganismos 3 ^{er} muestreo..... | 51 |
| Gráfico 13-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 52 |
| Gráfico 14-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 54 |
| Gráfico 15-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 55 |
| Gráfico 16-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 56 |
| Gráfico 17-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%..... | 57 |
| Gráfico 18-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 58 |
| Gráfico 19-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 60 |
| Gráfico 20-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 61 |
| Gráfico 21-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 62 |
| Gráfico 22-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%..... | 63 |

| | | |
|---------------------|--|----|
| Gráfico 23-3 | Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%..... | 64 |
| Gráfico 24-3 | Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%..... | 65 |
| Gráfico 25-3 | Crecimiento de <i>Salmonella typhi</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%..... | 66 |
| Gráfico 26-3 | Crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%..... | 67 |
| Gráfico 27-3 | Crecimiento de <i>Cándida albicans</i> antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%..... | 68 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1-1. Máquina Sacheteadora EFFYTEC modelo HB–152 de la planta Ginsberg Ecuador S.A..... | 26 |
| Figura 1-2. Puntos Críticos de Control de la Sacheteadora Effytec..... | 31 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|----------------|---|
| Anexo A | Fotografías: Evaluación microbiológica de la Sacheteadora Effytec |
| Anexo B | POE para el Análisis Microbiológico de Equipos |
| Anexo C | POE para Identificación Morfológica de Microorganismos |
| Anexo D | POE para Identificación de microorganismos por Tinción Gram |

RESUMEN

Se realizó la evaluación microbiológica de la eficacia del desinfectante Tego 51 empleado en el proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec, la investigación se la desarrollo en la empresa Ginsberg Ecuador S.A. ubicada en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha. Utilizando el método de hisopado y placas de contacto se tomaron muestras de los ocho puntos críticos de control, previo y posterior al uso del desinfectante Tego 51. Se evaluó la eficacia del desinfectante Tego 51 a diferentes concentraciones (0.1, 0.5 y 1%). Con cada una de las muestras tomadas se procedió al análisis microbiológico del equipo mediante la siembra en medios de cultivo selectivos para bacterias y hongos, posteriormente se realizó la identificación de microorganismos por tinción Gram, así como también la identificación morfológica de los microorganismos entre los materiales usados constan hisopos, placas de contacto, medios de cultivo, microscopio e incubadoras. Los resultados obtenidos, indican que las concentraciones utilizadas son capaces de eliminar los microorganismos presentes en la Sacheteadora Effytec *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* y los hongos *Aspergillus niger* y levaduras. Una vez realizada la evaluación microbiológica del desinfectante Tego 51 se concluye que la concentración más efectiva capaz de eliminar los microorganismos presentes en la Sacheteadora Effytec es la del 1,0 % siendo esta la concentración a emplear, la misma que queda registrada en el Procedimiento Operativo Estandarizado de limpieza y desinfección de equipos. Se recomienda que previamente al inicio del proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec se capacite al personal en el manejo y limpieza de equipos, además que todo el material empleado en este proceso esté limpio de esta manera asegurar resultados confiables y seguros.

PALABRAS CLAVES: <EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA> <LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN> <SACHETEADORA EFFYTEC> <MÉTODO HISOPADO> > <PLACAS DE CONTACTO> <DESINFECTANTE TEGO 51> <EMPRESA GINSBERG ECUADOR S.A.> <FARMACIA>

SUMMARY

The microbiological evaluation of the Tego 51 disinfectant effectiveness used in the cleaning and disinfection process of the Sacheteadora Effytec was carried out at the Empresa Ginsberg Ecuador S.A., located in the city of Quito, Pichincha province. The contact plate and cotton swab bud method were used, in which the samples of the 8 critical control points were taken before using Tego 51 disinfectant. The Tego 51 disinfectant effectiveness to different concentrations (0.1, 0.5, and 1%) was evaluated. The microbiological equipment analysis was done using the taken samples with selective media culture for bacteria and fungi. Then the microorganisms were identified by Gram staining. Besides, the microorganisms were also identified morphologically. Cotton swab buds, contact plates, culture media, microscope and incubators were used. From the results, the used concentrations have shown to be capable of eliminating *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* fungi and yeasts present in the Sacheteadora Effytec. Having evaluated Tego 51 disinfectant microbiologically, it is concluded that the most effective concentration capable of eliminating microorganisms present in the Sacheteadora Effytec is 1.0%, which is the concentration to be used, and it is registered in the standardized running procedure of the equipment cleaning and disinfection. It is recommended to train the staff in charge of cleaning and handling equipment before starting the cleaning and disinfection process. It is also necessary to keep the material used clean to guarantee reliable and safe results.

KEY WORDS: <MICROBIOLOGICAL EVALAUTION> <CLEANING AND DISINFECTION> <SACHETEADORA EFFYTEC> <COTTON SWAB BUD METHOD> <CONTACT PLATE> <TEGO 51 DISINFECTION> <EMPRESA GINSBERG ECUADOR S.A.> <DRUGSTORE>

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

Actualmente la industria farmacéutica basa la producción de sus medicamentos en rigurosas normas, operaciones y procedimientos establecidos en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) con parámetros físico químicos y microbiológicos dispuestos por organismos nacionales e internacionales como las mismas Farmacopeas, la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) y en nuestro país por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) los cuales están orientados a mejorar métodos de limpieza y desinfección que garanticen medicamentos de buena calidad y con total garantía de seguridad para el paciente.

La eficacia de un desinfectante va a depender de múltiples factores, dentro de ellos el tipo de microorganismo que se quiera combatir, su resistencia al medio ambiente, el modo de multiplicación, al igual que las sustancias químicas utilizadas, también son factores de mucha importancia la concentración, temperatura de trabajo, el tiempo de contacto con la superficie, etc. Además es importante conocer que un buen desinfectante no debe tener acción corrosiva, tóxica o sofocante para los seres vivos. (Jorge, 2012) Disponible en: <http://usuarios.multimania.es/bazericol/DESINFECC.htm>

Industria farmacéutica produce una gran variedad de medicamentos en diversas formas farmacéuticas una de ellas son los polvos granulados envasados en máquinas Sacheteadora los mismos que antes de salir a la venta deben pasar estrictos controles entre los más importantes es el control microbiológico es por esto que tanto principios activos y excipientes que entran en contacto directo con este equipo no se vean afectados por el mismo, garantizando así un producto de calidad.

En la fabricación de productos farmacéuticos el cumplir con requisitos especiales es indispensable con el fin de minimizar riesgos de contaminación microbiológica lo cual va a depender en gran medida de los conocimientos, habilidad, entrenamiento y actitud del personal encargado. (BPF, 2002, p. 59)

Una vez determinado los puntos críticos de control de la Sacheteadora Effytec es fundamental contar con un correcto proceso de limpieza y desinfección de la máquina y las piezas para evitar que se genere una contaminación microbiológica no deseada de tal manera que comprobar la eficacia del desinfectante utilizado es de suma importancia y constituye un elemento fundamental en el proceso de aseguramiento de calidad de los productos.

Al no tener un correcto y adecuado proceso de limpieza y desinfección de equipos se genera múltiples problemas de los cuales el de mayor riesgo es la contaminación microbiológica del producto y por ende alteraciones en la salud de los consumidores es por esto que un correcto proceso de limpieza y desinfección tiene como objetivo mejorar la calidad de los productos que ofrece Ginsberg Ecuador S.A.

Justificación de la investigación

Un eslabón importante dentro del sistema de Gestión de calidad en una empresa farmacéutica es el proceso de evaluación de los métodos de limpieza tanto de equipos, instalaciones, materiales, personal, etc. e incluso es un requisito que exige la Norma de Salud Ecuatoriana, es por eso que Ginsberg Ecuador S.A no escatima gasto alguno si de calidad se trata con el único fin de ofrecer medicamentos de la más alta calidad manteniéndose en el mercado nacional y posteriormente en mercados internacionales.

Por tal razón es de suma importancia verificar la eficacia del desinfectante Tego 51 utilizado a tres concentraciones distintas determinando así cual es la concentración más efectiva en el proceso de desinfección de la Sacheteadora, la misma que requiere un correcto proceso de limpieza y desinfección para así destruir, inhibir o prevenir la aparición de microorganismos que pueda estar presente en esta máquina, identificados los puntos críticos de control y los tipos de microorganismos que interfieran vamos a determinar la concentración más efectiva de desinfectante, teniendo presente que no afecte propiedades físicas, químicas y organolépticas de los medicamentos.

Al ingerir medicamentos que no sean de buena calidad puede generar ciertas patologías las mismas que se ven reflejadas no en su mejora sino por el contrario en el deterioro de la salud. Es por esto que en Ginsberg Ecuador S.A la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura proporciona lineamientos generales para la implementación de procedimientos que garantizan la calidad de los productos farmacéuticos elaborados en esta casa farmacéutica

basándose en controles microbiológicos durante todo el proceso de fabricación de medicamentos desde la recepción de materias primas hasta el final del proceso de producción.

Según las normas de Buenas Prácticas de Manufactura y la FDA la limpieza es considerada un punto crítico dentro del proceso de producción de medicamentos es por esto que Industria Farmacéutica trata de prevenir posible contaminación cruzada entre productos farmacéuticos y diversas sustancias contaminantes tales como residuos de agentes de limpieza, materiales suspendidos en el aire (polvo y material particulado), residuos de excipientes e ingredientes farmacéuticos activos, etc. Es por esto que un adecuado procedimiento de limpieza va a cumplir un rol fundamental en la prevención de contaminación cruzada durante el proceso de fabricación de medicamentos.

Tanto la limpieza y desinfección son procedimientos de enorme importancia dentro de industria farmacéutica los mismos que van a permitir controlar y minimizar la presencia de microorganismos sobre las superficies de materiales, equipos, instalaciones, etc.

El Tego 51 al ser un desinfectante con un efecto bactericida comprobado contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, hongos, levaduras etc., es uno de los desinfectantes que más se usa en el proceso de limpieza y desinfección de equipos, utensilios y máquinas dentro del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A como es el caso de la Sacheteadora Effytec que está funcionando permanente en el proceso de envasado de polvos efervescentes que produce esta empresa, se hace a través del método de hisopado ya que la mayoría de puntos críticos de limpieza son de difícil acceso lo cual dificulta la limpieza además otro factor también a considerar es la complejidad de ensamblaje de la máquina.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Evaluar microbiológicamente la eficacia del desinfectante TEGO 51 empleado en el proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec en Ginsberg Ecuador S.A.

Objetivos Específicos

- ✓ Verificar la eficacia del desinfectante Tego 51, mediante la técnica de muestreo directo de superficies por hisopo y placas de contacto utilizando las concentraciones sugeridas por el fabricante.
- ✓ Establecer la concentración más efectiva del desinfectante utilizado en el proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec.
- ✓ Comparar estadísticamente los resultados obtenidos para poder realizar modificaciones a los POES, mejorando así los procedimientos actuales.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Industria Farmacéutica

La industria farmacéutica es un sector dedicado a la fabricación, preparación y comercialización de productos químicos medicinal utilizado para el tratamiento y prevención de enfermedades la misma que reporta altos niveles de lucro económico. Muchas de las empresas farmacéuticas elaboran productos químicos farmacéuticos a granel conocida también como producción primaria los mismos que son preparados para uso médico mediante métodos conocidos colectivamente como producción secundaria. Dentro de los métodos de producción secundaria, altamente automatizados, se encuentra la fabricación de fármacos dosificados, como pastillas, tabletas, cápsulas o sobres para administración oral, óvulos, supositorios, soluciones para inyección, etc.

Todos estos productos están sujetos a una gran variedad de leyes y reglamentos con respecto a patentes, pruebas y comercialización de fármacos. En la actualidad industria farmacéutica es uno de los sectores empresariales más rentables e influyentes del mundo, produciendo elogios por sus contribuciones a la salud pero al mismo tiempo controversia por sus políticas de marketing y campañas para influir en los gobiernos con el propósito de extender sus patentes, aumentar los precios y por ende beneficios empresariales.

En la mayoría de los países, aquellos medicamentos o fármacos que han sido recientemente desarrollados o modificados reciben patentes por un periodo de unos 15 años a partir de la fecha de autorización. Las empresas farmacéuticas proporcionan una marca registrada a sus nuevos productos, y por ende pasan a ser propiedad exclusiva. Además estos nuevos medicamentos reciben un nombre genérico oficial de propiedad pública. Una vez que la patente expira, cualquier otra empresa que cumpla con las normas del organismo regulador puede fabricar y vender ese producto con el nombre genérico. (Sikes, 2011, p. 122)

Una de las vocaciones de industria farmacéutica siempre ha sido producir medicamentos seguros y de buena calidad para quien la consume. Los medicamentos al ser destinados a curar enfermedades, salvar o mejorar la calidad de vida, no puede haber margen de error al

fabricarlas. A pesar de múltiples controles en su fabricación, se exige una mejora continua y máximas garantías de calidad.

1.2 Laboratorio Farmacéutico Ginsberg Ecuador S.A

Ginsberg Ecuador S.A es una empresa orgullosamente ecuatoriana que se encuentra ubicada en la ciudad de Quito, cuyo lema es "la calidad no se controla en un producto, la calidad se construye durante su fabricación" dentro de su política de calidad el objetivo principal es el de ofertar una amplia gama de productos a un precio económico y de buena calidad he aquí el compromiso que Ginsberg tiene con la población.

Laboratorios Ginsberg Ecuador S.A al tener certificaciones ISO 9001:2008 basa su trabajo en el manejo de POES los mismos que poseen instrucciones escritas y completas de formulaciones, equipos y procedimientos que facilitan el trabajo de áreas productivas.

La visión de Ginsberg Ecuador S.A es la de ser una empresa líder en la fabricación y elaboración de productos farmacéuticos destinados al consumo humano, mediante la innovación e implementación de técnicas modernas y tecnología de punta que marque la diferencia a nivel local e internacional, su misión se orienta a satisfacer las necesidades del mercado mediante la elaboración de productos farmacéuticos de alta calidad manteniendo estándares a nivel nacional e internacional. (Ginsberg Ecuador S.A., 2015, p. 10)

1.3 Buenas Prácticas de Manufactura en Industria Farmacéutica

Un sistema integral que garantice la calidad en la elaboración de productos farmacéuticos no se basa únicamente en sistemas con procedimientos confiables que sirvan para autorizar el registro y la comercialización o en un análisis independiente del producto terminado, sino que la seguridad también se logra a través de una inspección independiente en la que todas las operaciones de fabricación sean conforme a las normas establecidas y aceptadas conocidas como Buenas Prácticas de Manufactura.

Las buenas prácticas de manufactura al ser un instrumento administrativo el estado se compromete a petición del interesado a certificar:

La autorización, venta y distribución del producto.

Además las instalaciones donde se fabrica los productos se someterán a inspecciones regulares para verificar que el fabricante aplica las Buenas Prácticas de Manufactura y también una inspección de la calidad.

Por lo mismo es indispensable que la industria farmacéutica nacional elabore productos basándose en las Buenas Prácticas de Manufactura, lo cual facilitara el control y garantía de la calidad brindando confiabilidad y seguridad en su administración, uso y dispensación al paciente y a los profesionales de la salud.

1.4 Limpieza y Desinfección

La aplicación de procedimientos de limpieza y desinfección en una industria tiene como finalidad reducir o eliminar la carga microbiana existente en equipos, superficies y ambientes en donde se lleva a cabo procesos de producción.

Diversos son los factores que van a determinar la reducción o eliminación de carga microbiana, uno de ellos es la naturaleza de las superficies de los equipos que entran en contacto con los productos que se procesan. Para obtener una buena limpieza y desinfección es indispensable conocer las diversas formas de contaminación de este modo poder implementar un correcto sistema de control y prevención.

Algunos de los principales factores de contaminación son el aire, el personal, los materiales y equipos utilizados en el proceso de fabricación.

La desinfección es un proceso de destrucción, inactivación o remoción de organismos patógenos principalmente bacterias de origen entérico. El objetivo de una adecuada desinfección es la de asegurar y proteger la salud del consumidor garantizando la calidad del producto frente a microorganismos patógenos. (Wildbreit, 2013, p. 65)

En la actualidad se puede encontrar variedad de productos tóxicos utilizados para matar o inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos hoy en día estos productos deben ser lo más tóxico posible para los microorganismos pero con efecto nocivo mínimo para el hombre, flora y la fauna. (Martínez, 2012, p. 11)

1.5 Desinfectantes

Un desinfectante o sanitizante es considerado como un agente químico o físico cuya función es la de reducir la contaminación microbiana en superficies inanimadas, según la EPA un desinfectante también se utiliza para reducir, pero no necesariamente elimina la población microbiana de áreas inanimadas a niveles considerados seguros y que están regulados por el Ministerio de Salud Pública.

Un desinfectante cumple su objetivo cuando elimina al menos el 99,999% de microorganismos patógenos en un intervalo de tiempo de 5 a 10 minutos, no necesariamente destruye bacterias formadoras de esporas o virus. (Alvey, 2011, pp. 189-193)

Entre los más utilizados en Industrias o Laboratorios Farmacéuticos son:

- Germekil®
- Etanol 70° GL
- Tego 51®
- Lavandina®
- SPOREC®
- Thimerosal
- Desinet®
- Sanit-T-10®

Algunas de las características que un desinfectante debe tener son:

- Toxicidad baja
- Permeabilidad alta
- Amplio espectro de acción
- Soluble en agua
- Estabilidad
- No corrosivo
- Inoloro
- Acción rápida

1.5.1 Características de un buen desinfectante

1.5.1.1 Actividad antimicrobiana:

Debe tener la capacidad de matar microorganismos teniendo presente que a bajas concentraciones de desinfectante debe tener un amplio espectro de acción. (Pelczar, 2009, p. 250)

1.5.1.2 Concentración del agente:

Muchos de los desinfectantes son efectivos únicamente cuando se utilizan a altas concentraciones, a diferencia de otros que utilizados a bajas concentraciones también pueden retardar, estimular o destruir microorganismos patógenos.

Sin embargo la concentración ideal para obtener un efecto deseado así como su espectro de concentración por el cual se demuestra dicho efecto va a variar con el desinfectante utilizado, el microorganismo y el método de prueba.

Para destruir una fracción de la población microbiana existe una relación entre el desinfectante utilizado y el tiempo necesario para destruir dicha fracción. La misma que se representa con la siguiente ecuación:

$$C^n t = K$$

Dónde:

C= Concentración del agente

t= tiempo requerido para destruir una fracción de la célula

n y K= constantes (Joklink, 2012, p. 302)

1.5.1.3 Solubilidad:

El desinfectante debe ser soluble en agua y otros disolventes, en la concentración indicada para su efectivo uso. (Pelczar, 2009, p. 826)

1.5.1.4 Estabilidad:

El cambio de propiedades durante el proceso de almacenamiento debe ser significativamente mínimo evitando pérdida en su acción germicida. (Pelczar, 2009, p. 826)

1.5.1.5 Homogeneidad:

La solución debe tener una composición uniforme de modo que los principios activos estén presentes en cada aplicación.

1.5.1.6 Toxicidad:

Debe ser lo más toxico posible con acción letal sobre los microorganismos a diferencia de lo que sucede con el hombre y los animales en donde dicha acción no debe existir.

1.5.1.7 Capacidad detergente:

Un desinfectante que también posea acción como detergente debe lograr dos objetivos principales: limpiar y desinfectar, en donde la acción limpiadora incrementara la efectividad del mismo.

1.5.1.8 Disponibilidad:

La disponibilidad del desinfectante debe ser en grandes cantidades y a un precio razonable.

- No debe corroer ni teñir el material que se esté tratando.
- El tiempo de exposición debe ser lo más corto posible.
- Está prohibido combinar con materiales extraños principalmente de origen orgánico.

1.5.2 Tipos de Desinfectantes y Antisépticos

1.5.2.1 Químicos

1.5.2.1.1 Aldehídos

Los que se utilizan comúnmente son el formaldehído y el glutaraldehído los cuales son muy similares en su toxicidad y tratamiento. El glutaraldehído es una solución acuosa levemente

alcalina cuando se prepara al 2% de concentración. A través de estudios realizados se evidencia que causa irritación respiratoria dando lugar a enfermedades como rinitis y asma ocupacional.

Debido al efecto irritante del glutaraldehído el uso de un equipo protector para la piel y ojos es indispensable según las normas OSHA, es por esto que el personal involucrado en la limpieza y desinfección necesita de respiradores apropiados.

El glutaraldehído es efectivo frente a algunos tipos de virus, esporas de bacterias y hongos, además que en el área médica es utilizado para la esterilización de instrumentos urológicos y ópticos. (Arias, 2006, pp. 1-17)

1.5.2.2 Orgánicos

1.5.2.2.1 Alcoholes

Utilizados ampliamente como desinfectantes, muchos de los desinfectantes generalmente son la combinación de etanol y alcohol isopropílico. El alcohol etílico al 96% es el desinfectante de uso doméstico ampliamente utilizado, el mismo es un líquido claro e incoloro y con olor característico a etanol. (Manring, 2010, p. 503)

La fórmula general de los alcoholes es $R-OH$, en donde el grupo hidroxilo es el responsable de la reacción física y fisiológica, la velocidad y extensión de esta.

Únicamente los alcoholes alifáticos de cadena corta son utilizados como antisépticos y desinfectantes en la que su acción bactericida tiene relación directa con el peso molecular.

La capacidad antimicrobiana de los alcoholes va a depender de ciertos factores como la concentración, condiciones del microorganismo y la coagulación de proteínas la misma que se ve influida por su solubilidad en lípidos, por lo general esto sucede a concentraciones límites las cuales son consideradas como óptimas y traen como consecuencia que haya pérdida de las funciones celulares.

En las que enzimas bacterianas localizadas sobre la pared celular se inactivan fácilmente a diferencia de las que se encuentran dentro de la célula, esta coagulación también se da sobre la membrana plasmática en donde se produce la destrucción de aminoácidos y ácidos nucleicos por lo general a concentraciones relativamente bajas. (Manring, 2010, p. 503)

Los alcoholes en ausencia de agua incrementan su peso molecular esto causa que las proteínas no sufran el proceso de desnaturalización es por esto que el alcohol etílico absoluto es menos bactericida que una mezcla alcohol-agua. (Manring, 2010, p. 503)

1.5.2.2.2 Fenol y compuestos fenólicos

El fenol o ácido carbólico fue uno de los primeros desinfectante en utilizarse, en la actualidad se lo utiliza como una solución patrón para ensayar el poder desinfectante de otras soluciones desinfectantes. El fenol y sus derivados tienen la acción para desnaturalizar las proteínas y alteran la permeabilidad de la membrana citoplasmática. (Arias, 2006, pp. 1-17)

Tomando como base el fenol se puede elaborar desinfectantes con mayor actividad bacteriana, menos tóxicos y con mejor olor sustituyendo los hidrógenos del anillo bencénico por radicales alquílicos o halogenados como ejemplo tenemos al cresol que es un alquil fenol con radical alquílico el mismo que puede ocupar la posición orto, meta o para dando el ortocresol, metacresol y paracresol respectivamente. Generalmente se emplea la mezcla de los tres denominándose Tricresol. (Anderson, 2011, pp. 654-657)

1.5.2.2.3 Ácidos y álcalis

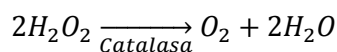
Tienen acción bactericida, actúan alterando la permeabilidad y coagulando las proteínas gracias a la acción de grupos H^+ y OH^- disociados respectivamente. Su acción viene dada por el grado de disociación en algunos casos los hidróxidos son más efectivos con respecto a su grado de disociación, debido a la acción directa que ejerce el catión metálico. (Franklin, 2009, p. 512)

Generalmente los ácidos son más efectivos y eficaces que los álcalis, dentro de este grupo podemos encontrar al ácido sulfúrico, nítrico, hidróxido de sodio y potasio. Su aplicación es limitada dada la naturaleza caustica y corrosiva a pesar de estos factores el NaOH es ampliamente utilizado en la industria del vino para limpiar las cubas de madera. (Anderson, 2011, pp. 654-657)

1.5.2.2.4 Peróxido de hidrógeno

Es uno de los desinfectantes muy utilizados en industria farmacéutica y cosmética, debido a su bajo costo y a la eficacia sobre microorganismos aerobios. Su acción sobre los

microorganismos se debe a la oxidación directa de estructuras bacterianas o por la liberación de oxígeno.



Uno de los componentes del peróxido de hidrogeno es el oxígeno el cual es un gas incoloro, inodoro y poco soluble en agua característica que aumenta su efecto desinfectante, el otro componente es el hidrógeno el mismo está presente en todos los organismos vivos y se lo utiliza como agente reductor reduciendo ciertos compuestos a estado de oxidación menor, en otras palabras disminuir la carga eléctrica de un átomo. (Henao, 2005, p. 169)

Es sabido que el oxígeno posee efecto tóxico sobre los microorganismos formando radicales libres los mismos que son tóxicos para los compuestos celulares, es por esto que aquellos microorganismos que crecen en oxígeno deben sintetizar la enzima superóxido dismutasa para neutralizarlo. Gracias a esto el radical libre superóxido se transforma en oxígeno molecular y peróxido de hidrogeno.

El radical peróxido ($O_2^{\cdot -}$) se produce en mínimas cantidades en la respiración normal y es otra forma tóxica del oxígeno. El radical hidroxilo es el último producto de la reducción normal el cual es muy reactivo y se produce generalmente por las radiaciones ionizantes o por la reacción entre radicales libres superóxido o peróxido. (Cuesta, 2004, p. 15)

1.5.2.2.5 Agentes oxidantes halogenados

Bactericidas útiles y potentes. Uno de los primeros antisépticos en usarse fue el cloro el mismo que se presenta en forma de gas, hipocloritos y cloraminas, su acción bactericida se debe a la combinación directa del cloro con las proteínas celulares de las membranas y las enzimas. (Arias, 2006, pp. 1-17)

Su acción se debe a la capacidad para formar ácido hipocloroso no disociado y cloro libre en donde la concentración del ácido hipocloroso depende del pH de la solución.

1.5.2.2.6 Amonios cuaternarios

Son sales de acción anfótera que no tienen color, sabor ni olor, debido a su acción detergente rompen la membrana citoplasmática disolviendo las capas lipídicas y desnaturalizando las

proteínas. Se los utiliza ampliamente en la desinfección de instrumentos y en la sanitización de ambientes. Una de las limitaciones es que no tienen acción sobre esporas y su efecto es neutralizado por otros compuestos como detergentes aniónicos, jabones o materia orgánica. (Tortora, 2012, p. 564)

Entre los más utilizados tenemos:

1.5.2.2.6.1 Cloruro de Benzalconio:

Es un amonio cuaternario de olor aromático, color blanco amarillento, posee alta solubilidad en agua y alcohol. Su disociación en solución acuosa se da en tiempos relativamente largos. Además posee buena acción germicida sobre bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas.

Su espectro de acción no tiene interferencia en la destrucción de esporas, en cambio para *Candida albicans* y hongos su actividad es buena pero insuficiente frente a virus. La variabilidad de su efecto antibacterial puede mejorar con un 0.175 % de fenil propanol o de alcohol bencílico. (Jawets, 2001, p. 165)

Efectos de los amonios cuaternarios:

Sobre proteínas: Su acción tensioactiva va desnaturalizar proteínas por disociación del grupo prostático.

Sobre el metabolismo: A nivel citoplasmático interactúa con las enzimas estimulando el proceso de glicolisis y alterando la acción enzimática de la célula.

Sobre la permeabilidad celular: Reduce la actividad de coenzimas y produciendo pérdida de iones potasio.

1.5.2.2.6.2 Sani-t-10:

Es un producto desinfectante que incluye amonios cuaternarios de avanzada tecnología y gran eficacia para el control de bacterias, hongos, virus y malos olores. Debido a su fórmula se lo utiliza como sanitizante para superficies que entran en contacto con alimentos o también como desinfectante para frutas y verduras.

Sani-t-10, no contiene agentes de limpieza, perfumes u otra clase de aditivos que puedan generar inconvenientes en áreas productivas. Es un producto de eficacia comprobada contra

bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* y *Pseudomonas aeruginosa*; Hongos patógenos como *Trichophyton interdigitale*, y contra los virus patógenos: Vaccina, Influenza A2 (Inglaterra), Herpes Simplex y Adenovirus Tipo 5.

1.6 Análisis Teórico de la Actividad de los Desinfectantes

Las gráficas del logaritmo del número de microorganismos por mL que sobreviven en una solución de desinfectante indican que se puede aplicar una cinética de primer orden como una aproximación bruta a la reducción del recuento microbiano en relación al tiempo. En la práctica, las gráficas muestran una curva más sigmoidea con una reducción inicial de los números más lenta, incrementándose luego la velocidad en relación al tiempo.

La constante de velocidad, K, para el proceso de desinfección se puede calcular mediante la fórmula:

$$(1/t)(\log N_0/N)$$

En donde:

t es el tiempo en minutos necesario para reducir el recuento microbiano de N_0 a N

N_0 es el número inicial de organismos, en ufc por ml.

N es el número final de organismos, en ufc por ml.

Tal como ocurre con una relación química de primer orden, la misma concentración de desinfectante reduce el número de organismos en forma más rápida y a temperaturas elevadas. El impacto de la temperatura, T, puede expresarse a través del Q_{10} coeficiente por cada 10°C de aumento de temperatura, calculado por la fórmula:

Tiempo para descontaminación a T° / Tiempo para descontaminación a T en donde T es $T^\circ - 10$.

Para emplear los desinfectantes de forma satisfactoria, es fundamental entender el efecto de la concentración en la reducción microbiana. Un gráfico del logaritmo del tiempo para reducir a cero la población microbiana de un inóculo estándar en función del logaritmo de la concentración del desinfectante es una línea recta cuya pendiente se denomina exponente de la concentración, n. La relación se puede expresar del siguiente modo:

$$N = (\log \text{ tiempo de muerte a la concentración } C_2) - (\log \text{ tiempo de muerte a la concentración } C_1) / (\log C_1 - \log C_2)$$

En donde C_1 y C_2 son las concentraciones más alta y más baja del desinfectante, respectivamente (USP, 2008, pp. 542-546)

Las amplias diferencias en los exponentes de concentración, n , tienen consecuencias prácticas en la selección de la dilución de uso de los distintos desinfectantes, en el uso de la dilución para neutralizar un desinfectante, en la prueba de eficacia de desinfectantes y en el control microbiano de rutina del entorno de fabricación.

Los desinfectantes con exponentes de concentración o coeficientes de dilución mayores pierden rápidamente actividad al diluirlos. En la tabla 1.1 se listan los exponentes de concentración de algunos desinfectantes. (USP, 2008, pp. 542-546)

Tabla 1-1 Exponentes de concentración de Antisépticos, Desinfectantes y Esterilizantes comunes

| DESINFECTANTE | EXPONENTES DE CONCENTRACIÓN |
|----------------------------------|-----------------------------|
| Peróxido de hidrógeno | 0.5 |
| Hipoclorito de sodio | 0.5 |
| Cloruro mercúrico | 1 |
| Clorhexidina | 2 |
| Formaldehído | 1 |
| Alcohol | 9 |
| Fenol | 6 |
| Compuestos de amonio cuaternario | De 0.8 a 2.5 |

Fuente: USP35-NF30, 2008, pp.545

1.7 Tego 51

Desinfectante soluble en agua, compuesto por aminoácidos de alto peso molecular, es un compuesto anfoterocida debido a sus grupos catiónicos y aniónicos que posee la misma molécula. Su efecto bactericida se da en la adsorción de las paredes celulares, también atraviesa la pared celular que está cargada negativamente reduciendo la pérdida de potasio y generando la desnaturalización de proteínas. (Arias, 2006, pp. 1-17)

Su uso se recomienda en la desinfección de mesas de trabajo, utensilios, en una concentración al 1% en un periodo de tiempo de 15 minutos, la concentración puede variar en relación de las necesidades microbiológicas para una desinfección normal, (Aldana, 2012, p. 32) diversos estudios han reportado la eficacia del Tego 51 contra microorganismos como *Listera monocytogenes*,

Staphylococcus aureus , *Campylobacter jejuni*, y también contra algunos virus como el Herpes virus, Adenovirus y Rhabdovirus. (Mossei, 2013, p. 236)

Modo de uso

- ✓ Lavar con detergente indicado
- ✓ Enjuagar con agua limpia
- ✓ Utilizar Tego 51 entre el 1% y 2%
- ✓ Dejar actuar durante 10 minutos
- ✓ Finalmente enjuagar con abundante agua

Tabla 2-1 Características físico químicas del Tego 51

| PARÁMETRO | VALOR |
|------------------|--|
| Densidad | 1000+/-0.005 g/cc a 20°C |
| Viscosidad | 7.5+5.0 mPa. a 20°C |
| Índice pH | Sin diluir 2+/-0.3 Solución acuosa 1% 8.3+/-0.5 |
| Tensoactividad | Solución acuosa al 1% -27.8+/-0.5mN/m 20°C |
| Conductividad | Solución acuosa al 1% -640+100 micras/cm 20°C |
| Solubilidad | Soluble con agua en cualquier proporción |

Fuente: Aldana, L. 2012, pp.32

1.8 Niveles de Desinfección

Se han propuesto tres niveles de desinfección según la capacidad de destrucción del agente

- Alta: Elimina todo tipo de microorganismos incluyendo virus.
- Intermedia: Las formas vegetativas de bacterias, virus, hongos son eliminadas pero no todos los virus.
- Baja: Se eliminan bacterias patógenas en su forma vegetativa y algunos hongos.

1.9 Factores que Afectan la Eficacia de los Productos

1.9.1 Desinfectantes

Múltiples factores pueden afectar la eficacia de los desinfectantes entre los que tenemos la concentración, temperatura, tiempo de contacto, etc. Además de estos factores la forma de aplicación, materia orgánica, el tipo de superficie y los microorganismos también son factores que determinen la eficacia del producto.

Los factores que influyen en la capacidad del desinfectante son el tipo de agua, tipo de microorganismo, pH, temperatura, condiciones de crecimiento, tiempo y concentración del desinfectante. (Holah, 2005, pp. 355-365)

1.9.2 Agua

El agua es el solvente más utilizados en los productos de limpieza y desinfectantes ya que este arrastra la suciedad. La cantidad de agua disponible se mide en relación a la actividad de agua, la misma que servirá para saber si hay alteración de productos debido a una multiplicación de microorganismos.

La presencia de agua también incrementa el efecto letal del calor sobre los microorganismos en el proceso de limpieza. El agua contiene impurezas como (sales inorgánicas, gases disueltos, sustancias orgánicas solubles) excepto si ha sido destilada en condiciones controladas. (I.C.M.S.F, 2010, p. 165)

Las aguas duras son aquellas que contienen Calcio y Magnesio y en menor cantidad elementos como (Aluminio, Zinc, Hierro, Manganeso) con una masa total de 60 ppm o más. Estas aguas al reaccionar con detergentes, jabones, desinfectantes van a reducir la acción antiséptica de estos productos.

Las aguas blandas son aquellas que tienen pocos minerales y producen mucha espuma al mezclarse con jabón. El agua destilada es una de las aguas más blandas ya que no contiene ningún mineral.

Es muy importante saber las características químicas del agua ya que podemos encontrar sustancias disueltas en la misma que pueden interferir en el proceso de limpieza obteniendo resultados no deseados en este tipo de procesos. (Holah, 2005, pp. 355-365)

Es indispensable conocer algunos parámetros que sirven para medir las propiedades comunes de muchas sustancias a la vez, uno de ellos es la acidez en donde el agua tiene la capacidad de neutralizar una base fuerte, en aguas superficiales la acidez se produce por la formación de ácidos fuertes, por la disolución del gas carbónico (CO_2) o la actividad microbiana en el agua por la acción de algunos minerales presentes en el suelo como el yeso o cuando la fuente recibe cargas industriales ácidas.

Una acidez es débil cuando es causada por la disolución del gas carbónico presente en la atmosfera o también cuando esta es producida por la actividad microbiana del agua. Para prevenir daños de corrosión el agua no debe tener un pH mayor a 6.5. (Holah, 2005, pp. 355-365)

1.9.3 Condiciones de crecimiento y tipo de microorganismo

El espectro de acción de un desinfectante debe ser amplio para todo tipo de microorganismos como hongos, bacterias, virus y esporas. En donde las esporas son las más resistentes, seguidas de los hongos, bacilos Gram negativos, cocos, y finalmente bacilos Gram positivos. (Herruzo, 2000, p. 806).

Se sabe que los microorganismos son más resistentes cuando se encuentran formando biofilms, que aquellos que están en suspensión. Estos biofilms ejercen una acción protectora e interferente dificultando la acción de los desinfectantes. (Holah, 2005, pp. 355-365)

Cuando la cantidad de microorganismos es elevada se necesita mayor concentración del desinfectante y mayor tiempo de acción, es por esto que se recomienda una limpieza previa a su aplicación ya que reducirá el nivel de microorganismos y mejorara la acción del desinfectante.

1.9.4 EL pH

Los desinfectantes pueden verse alterados por el pH del agua en que se diluye, es así que deben utilizarse en rangos de pH recomendados por el fabricante. El pH puede afectar el grado de ionización del producto, es así que las formas ionizadas son las que atraviesan fácilmente las membranas de los microorganismos.

1.9.5 Temperatura

La efectividad de los desinfectantes debe ser amplia en diferentes rangos de temperatura los mismos que pueden ir de 5°C a 55°C límites recomendados por el fabricante. La temperatura óptima de aplicación se da cuando aumentamos la temperatura por ende su eficacia hasta alcanzar su punto máximo, a partir del cual el incremento de temperatura reducirá el potencial biocida.

Dentro del proceso de limpieza y desinfección la temperatura del agua es de suma importancia ya que al alcanzar altas temperaturas puede emulsificar las grasas, desprender partículas o producir una acción bactericida antes que se enfríe la superficie. (Gallardo, 2010, pp. 47-53)

La estabilidad de los desinfectantes también es importante por ejemplo los halógenos que a altas temperaturas descienden rápidamente. Otros como el cloro y el yodo a altas temperaturas se descomponen rápidamente. Otro ejemplo es el cloro que a altas temperaturas se torna corrosivo y difícil de manipular. (Fleitas, 2014, pp. 19-23)

1.9.6 Tiempo de contacto

Para que sea efectivo un desinfectante debe atravesar la membrana celular hasta el sitio diana es así que el tiempo de contacto entre el desinfectante y la célula es un punto crítico para asegurar la desinfección y alcanzar el objetivo que es reducir la carga microbiana en un orden de 5 unidades logarítmicas durante 5 minutos de contacto en una prueba de suspensión. (Holah, 2005, pp. 355-365)

El tiempo de aplicación va ligado a la concentración del desinfectante aplicado, por lo que a concentraciones bajas los tiempos de contacto suelen ser mayores y viceversa siendo para la mayoría de casos entre 10 y 15 minutos. (Herruzo, 2000, p. 806)

1.9.7 Concentración

Al aplicar una preparación de desinfectante la relación entre concentración del desinfectante y muerte microbiana no es lineal pero se sigue una curva de muerte microbiana en la que a bajas concentraciones los microorganismos se resisten a su muerte, pero al aumentar la concentración estos microorganismos sucumben al desinfectante. (Holah, 2005, pp. 355-365)

1.9.8 Formulación

La mayoría se usa en soluciones acuosas, los desinfectantes fenólicos promueven la solubilidad de compuestos activos a través de sus agentes activos.

Los compuestos de amonio cuaternario también se formulan con detergentes en donde solo los tipos no iónicos son compatibles y su actividad debe ser comprobada mediante pruebas microbiológicas.

También debe ser verificada la compatibilidad de los detergentes con los desinfectantes clorados y yodados. En las formulaciones fenólicas el espectro antibacterial está influenciado por el tipo de fenoles usados en donde algunos son más activos frente a bacterias Gram positivas y otras frente a Gram negativas. (Gardedner, 2013, p. 156)

Tabla 3-1 Desinfectantes y antisépticos más comunes

| AGENTE QUÍMICO | ACCIÓN | USOS |
|--|--|--|
| Etanol (50-70%) | Desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos. | Antiséptico usado en piel |
| Isopropanol (50-70%) | Desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos. | Antiséptico usado en piel |
| Formaldehído (8%) | Reacciona con grupos NH_2 , SH y COOH | Desinfectante, mata endosporas |
| Tintura de yodo (2% I_2 en 70% alcohol) | Inactiva proteínas | Antiséptico usado en piel |
| Cloro (Cl_2) gas | Forma ácido hipocloroso (HClO), un fuerte agente oxidante | Desinfección en general y en particular para agua potable. |
| Nitrato de plata ($AgNO_3$) | Precipita proteínas | Antiséptico general y usado en ojos de recién nacidos. |
| Cloruro de mercurio | Inactiva proteínas por reacción con los grupos sulfuro | Desinfectante en ocasiones usado como componente en antisépticos para piel. |
| Detergentes (ej. Amonios cuaternarios) | Ruptura de membranas celulares | Desinfectantes y antiséptico de piel |
| Compuestos fenólicos (ej. hexilresorcinol, hexaclorofenol) | Desnaturalizan proteínas y rompen las membranas celulares. | Antisépticos a bajas concentraciones, desinfectantes a altas concentraciones. |
| Óxido de etileno (gas) | Agente alquilante | Desinfectante usado para esterilizar objetos sensibles al calor como goma y plásticos. |

Fuente: <http://mail.fq.edu.uy/~microbio/MGral/practico/tercer ciclo.doc>

1.10 Mecanismo de Acción de los Antisépticos y Desinfectantes

Los mecanismos de acción de los antisépticos y desinfectantes son múltiples, pero en todos subyace hasta cierto punto la secuencia de eventos que se muestra en el siguiente esquema:



En esta secuencia se muestra que el primer paso sería la interacción del agente con la superficie del microorganismo (paso 1), con el propósito de penetrar al mismo para alcanzar el blanco de acción (paso 2), causando daños bioquímicos diversos y/o causando alteraciones metabólicas, cuyo resultado final sea la destrucción microbiana (paso 3). Es de notar que la propia interacción con la superficie microbiana puede causar daños suficientes para alterar la viabilidad del microorganismo particular. (Poole, 2002, pp. 55-64)

1.11 Resistencia Microbiana a los Desinfectantes

El desarrollo de resistencia microbiana frente a los antibióticos es un fenómeno ampliamente conocido. El desarrollo de resistencia microbiana a los desinfectantes es menos probable, ya que los desinfectantes son agentes biocidas más poderosos en relación a los antibióticos y se aplican en mayores concentraciones contra las poblaciones de microorganismos más bajas que, por lo general, no están en crecimiento activo; es por ello que la presión selectiva para el desarrollo de resistencia es menos profunda.

Sin embargo, los microorganismos aislados con mayor frecuencia de un programa de control ambiental pueden someterse periódicamente.

1.11.1 Resistencia de bacterias Gram positivas

La pared celular de estas bacterias, está compuesta principalmente de peptidoglicano y ácidos teicoicos, pero ninguno de estos parece ser una barrera efectiva para la entrada de antisépticos y desinfectantes. Existen microorganismos que pueden crecer con un aspecto mucoso y otros no lo hacen, pero estas últimas mueren mucho más rápido, por lo que se podría decir que juegan un papel importante al actuar como una barrera física a la penetración de los desinfectantes o como una capa suelta que interactúa o absorbe el biocida. (McDonnell, 2010, pp. 147-179)

1.11.2 Resistencia de bacterias Gram negativas

Las bacterias Gram negativas son más resistentes que las Gram positivas a los desinfectantes y antisépticos. La membrana externa de estas bacterias actúa como una barrera que limita la entrada de algunos desinfectantes.

Muchos autores consideran que el peptidoglicano puede ser una gran barrera, porque el contenido de este es mucho más bajo que el que se encuentra en las bacterias Gram positivas, entonces las hace menos sensibles a muchos agentes químicos. (McDonnell, 2010, pp. 147-179)

1.11.3 Resistencia de las esporas

Las esporas son mucho más complejas debido a que poseen múltiples capas.

La capa externa se conoce como exosporium, una fina y delicada cubierta de carácter proteico y se presenta en algunas especies. Dentro de estas se presentan las cubiertas de la espora compuestas por capas de proteínas. (Mcdonnell, 2010, pp. 147-179)

El córtex es una capa de peptidoglicano de uniones laxas y el protoplasto contiene pared, membrana, citoplasma, nucleóide, ADN, ARN, Ácido Dipicolínico, Calcio, Magnesio, Fósforo.

El córtex es una parte importante en la resistencia frente a los desinfectantes y antisépticos.

Esta resistencia puede ocurrir dentro de la etapa de esporulación y puede ser un evento que puede ocurrir en etapas temprana, intermedia o tardía.

1.11.4 Resistencia de hongos

Estos organismos tienen dos mecanismos de resistencia, el primero es una resistencia intrínseca y el segundo una resistencia adquirida.

En la resistencia intrínseca la célula presenta una barrera para reducir la entrada de un agente antimicrobiano. También la edad de los cultivos influye en la resistencia a la sensibilidad hacia los desinfectantes, ya que la pared celular es mucho menos sensible en fase estacionaria que en fase logarítmica.

Los hongos son generalmente más resistentes que las levaduras y considerablemente más resistentes que las bacterias no esporuladas. Las esporas de los hongos son menos resistentes que las esporas bacterianas a los agentes biocidas.

1.11.5 Rotación de desinfectantes

La rotación con dos o tres desinfectantes es la mejor medida para prevenir la aparición de fenómenos de resistencia y adaptación. La limpieza y desinfección son etapas fundamentales en la higienización de superficies industriales pero no siempre se consigue el resultado perseguido.

Tras un tratamiento continuado suele apreciarse que las superficies no solo no se desinfectan bien, sino que en ocasiones se da un incremento del número de bacterias.

Cuando ello ocurre se define una situación de riesgo que puede ser especialmente importante si entre los microorganismos que permanecen se encuentran bacterias patógenas. (Arias, 2006, pp. 1-17)

1.11.6 Mecanismo de la actividad del desinfectante

La tabla 4-1 lista los sitios y modos de acción de algunos desinfectantes representativos. (USP, 2008, pp. 542-546)

Tabla 4-1 Mecanismo de la actividad de los desinfectantes contra células microbianas

| OBJETIVO | DESINFECTANTE |
|---|---|
| Pared celular | Formaldehído, hipoclorito y mercuriales |
| Membrana citoplasmática, acción sobre el potencial de la membrana | Anilidas y hexaclorofeno |
| Enzimas de membrana, acción sobre la cadena de transporte de electrones | Hexaclorofeno |
| Acción sobre el ATP | Clorhexidina y óxido de etileno |
| Acción sobre enzimas con grupos –SH | Óxido de etileno, glutaraldehído, peróxido de hidrogeno, hipoclorito, yodo y mercuriales. |
| Acción sobre la permeabilidad general de la membrana | Alcoholes, clorhexidina y compuestos de amonio cuaternario |
| Ribosomas | Peróxido de hidrógeno y mercuriales |
| Ácidos nucleicos Hipocloritos | Hipocloritos |
| Grupos tiol | Óxido de etileno, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, mercuriales |
| Grupos amino | Óxido de etileno, glutaraldehído e hipoclorito |
| Oxidación general | Óxido de etileno, glutaraldehído e hipoclorito |

Fuente: USP 35-NF30, 2008, p.544

1.12 Características Técnicas y Descripción del Equipo

A continuación se detalla las descripciones técnicas de la Sacheteadora Effytec, la cual se encuentra en el área de Empaque.

Tabla 5-1. Especificaciones Generales del Equipo

| | |
|--------------------|-------------------|
| Modelo: | HB152 |
| Serie N°: | HB152013 |
| Año: | 2011 |
| Fabricante: | EFFYTEC packaging |

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

Tabla 6-1. Parámetros de funcionamiento del Equipo

| PARÁMETRO | VALOR/INTERVALO |
|------------------------------|--|
| Funcionamiento | Intermitente |
| Sistema | Eléctrico mecánico neumático |
| Voltaje | V= 220 A=42 |
| Presión aire | 6 Bar |
| Control | PLC |
| Potencia | Aprox. 12 Kw |
| Tensión | Ver placa |
| Temperatura ambiente | Desde 0° hasta aprox. 40° |
| Humedad máx. | Hasta 80% |
| Presión neumática | 6Kg/cm2 |
| Dimensiones | 3395 x 1400 x 980 |
| Peso | Máquina base aprox. 2500 Kg. |
| Nivel sonoro | Aprox. 60dB |
| Formato | Máx. 75 x 175; min 60 x 60 |
| Producción | Hasta 200 sobres/minuto |
| Material de envoltura | Toda clase de complejos termosoldables |
| Bobina | Ø 450 mm máx. |
| Núcleo bobina | Ø 70/75 mm |

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015



Figura 1-1. Máquina Sacheteadora EFFYTEC modelo HB-152 de la planta Ginsberg Ecuador S.A.

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015.

1.12.1 Descripción del equipo

- Máquina empacadora en sachets de diverso film termosoldables y formato; contiene un sistema eléctrico, mecánico y neumático de funcionamiento intermitente, para polvos y granulados.
- El instrumento está equipado con un Control Lógico Programable (PLC) para el control del equipo.
- Se requiere de toma eléctrica y de toma de aire seco de acuerdo a sus especificaciones y asegurarse de que estén debidamente conectados a los respectivos puertos de la máquina.
- Este instrumento consta de las siguientes secciones: desbobinador, alineador, arrastre por rodillos, dosificador, soldadoras, muescas, pinzas y tijeras, ventosas.
- Los cambios en formatos son realizados y memorizados en la máquina mediante la pantalla táctil. (Ginsberg Ecuador S.A., 2015, pp. 4-5)

1.13 Puntos Críticos

Para obtener productos de alta calidad de una forma objetiva, desde hace ya más de tres décadas se desarrolló la metodología del sistema de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (ARCPC o HACCP), el mismo es un sistema preventivo que controla de forma lógica y sistemática toda la producción de una industria alimenticia y farmacéutica.

El sistema de análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (ARCPC o HACCP), que tiene fundamentos científicos y carácter sistemático, permite identificar peligros específicos y medidas.

Es un instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de control que se centran en la prevención en lugar de basarse principalmente en el ensayo del producto final. Todo sistema de HACCP es susceptible de cambios que pueden derivar de los avances en el diseño del equipo, los procedimientos de elaboración o el sector tecnológico. (Denyer, 2002, pág. 82)

CAPÍTULO II

2 MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de Realización

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Control de Calidad de la Empresa Ginsberg Ecuador S.A ubicada en las calles Antonio Castillo N°77 y Juan Barrezuela de la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha.

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Materiales de laboratorio*

- Pipetas graduadas
- Material de vidrio estéril - tubos
- Gradilla
- Asas de siembra
- Mechero Bunsen
- Portaobjetos
- Hisopos estériles
- Cajas petri estériles
- Balanza
- Erlenmeyers
- Probetas
- Placas Rodac
- Papel Aluminio

2.2.2 *Equipos*

- Sacheteadora Effytec
- Cámaras de incubación
- Cabina de bioseguridad Atmostech,

- Autoclave
- Microscopio
- Agitador mecánico Vórtex
- Cronómetro

2.2.3 Medios de Cultivo y Reactivos

Para el estudio se usaron los siguientes reactivos:

- Agar Neutralizing
- Agar Manitol
- Agar MacConkey
- Agar Sulfito bismuto
- Agar Tripticasa de soya (TSA)
- Agar Sabouraud (SAB)
- Agar Cetrimide
- Alcohol 70%
- Agua de peptona
- Cristal Violeta
- Lugol
- Alcohol Acetona
- Safranina
- Azul de Lactofenol

2.2.4 Material de estudio

Tego 51 utilizado a tres concentraciones distintas en el proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec.

Concentración 1 → 0.1 %

Concentración 2 → 0.5 %

Concentración 3 → 1.0 %

2.3 Técnicas y métodos

2.3.1 Muestreo de la Sacheteadora Effytec

2.3.1.1 Puntos de muestreo y toma de muestra

La toma de muestra se realizó bajo condiciones asépticas para en lo posible evitar contaminación cruzada una vez que se haya concluido el proceso de limpieza y desinfección. Se realizó tres muestreos en el que se aplicó el método de hisopado antes y después de emplear el desinfectante

Tego 51, para determinar la carga microbiana presente en la superficie de los seis Puntos Críticos de Control de la Sacheteadora Effytec.

Para los otros dos puntos críticos de control se utilizó el método de placas de contacto directo, del mismo modo estas placas se utilizaron antes y después del proceso de limpieza y desinfección.

A partir de esto y con el fin de poder establecer el tiempo de contacto requerido del desinfectante Tego 51 para la eliminación de los microorganismos presentes se evaluó la acción del desinfectante a los 10 minutos de su exposición.

Al primer muestreo se aplicó el proceso de desinfección con el desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,1%.

Al segundo muestreo también se aplicó el proceso de desinfección con el desinfectante Tego 51 pero a una concentración del 0,5%.

Finalmente al tercer y último muestreo se aplicó el proceso de desinfección con el desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0%.

Los puntos de muestreo fueron seleccionados conforme a los intereses de la empresa, puesto que los puntos seleccionados son las zonas de mayor contacto con el producto.

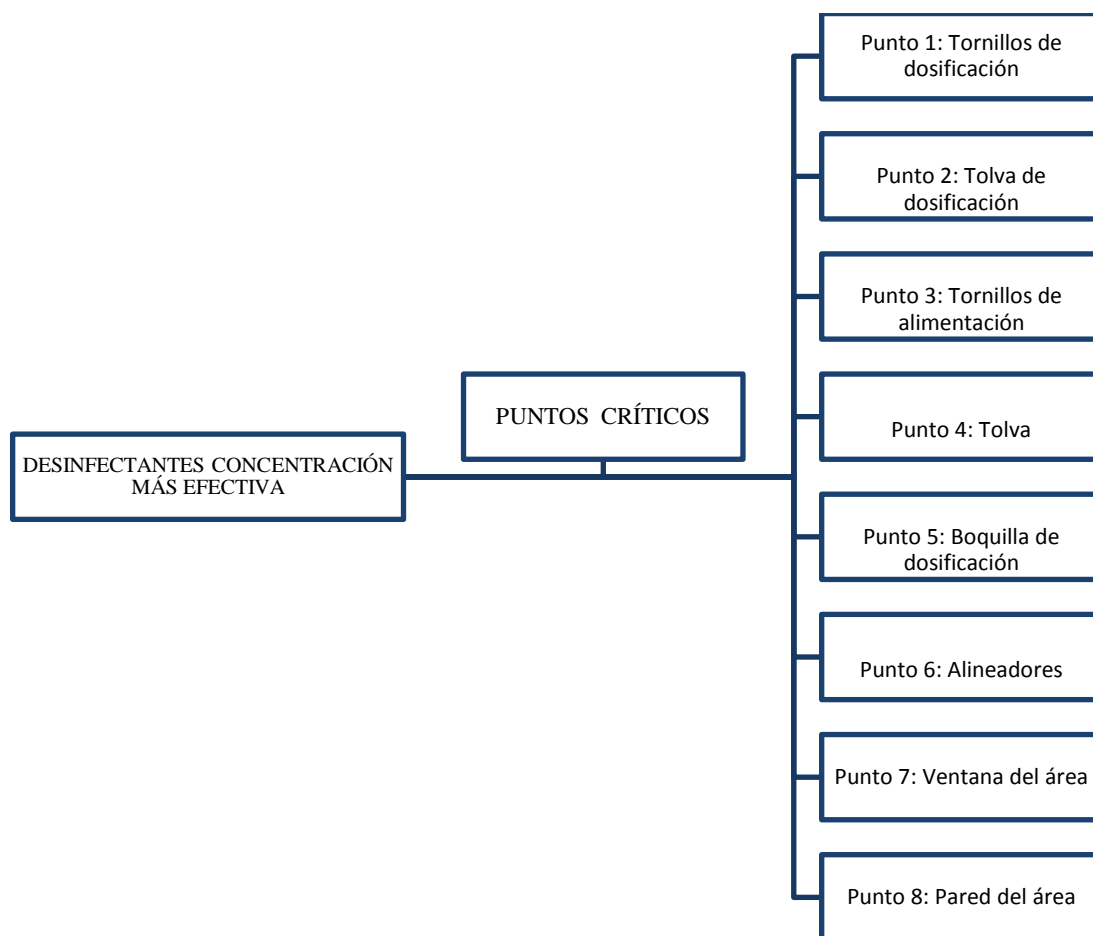


Figura 1-2. Puntos Críticos de Control de la Sacheteadora Effytec
 Realizado por: COLCHA, Juan Carlos, 2016

2.3.2 Procedimiento para el análisis microbiológico de equipos

2.3.2.1 Metodología / procedimiento

Tabla 1-2. Preparación de medios

| | |
|---------------------------|--|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none"> 1. Preparar y esterilizar los medios de cultivo de acuerdo a las instrucciones del fabricante. 2. Introducir los medios de cultivo preparados al área de siembra y los mantiene a 40 - 45 °C hasta su utilización. 3. Encender la cabina de bioseguridad y limpiar el área con alcohol al 70% 4. Rotular las cajas petri con un marcador permanente con la fecha, con el tipo de medio que se va utilizar. 5. Llenar las bases de las cajas petri con el medio de cultivo correspondiente (aprox. 20ml) hasta la solidificación dentro de la CBS. 6. Incubar las cajas petri como blancos una para bacterias a 35-37°C durante 48 horas y una para hongos a 25°C por 5-7 días para verificar que no existan problemas con la esterilización y/o preparación de medios de cultivo. 7. Utilizar TSA como medio de cultivo para bacterias y SAB para Hongos 8. Guardar las cajas petri preparadas, al ambiente y protegidos de la luz por máximo 48 horas o en refrigeración de 2-8°C máx. por 8 días. Si se los ha guardado en refrigeración para su utilización se debe sacar de la refrigeradora unos 30 min antes de su uso para que el medio de cultivo tome la temperatura ambiente. Si no ha utilizado estos medios en los ocho días hay que descartarlos. 9. Preparar también tubos de ensayo que contengan 2 ml de agua peptona o de suero fisiológico, para el hisopado de los equipos. El número de tubos a usar depende de los puntos que se vaya a muestrear de cada equipo. |
|---------------------------|--|

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

Tabla 2-2. Muestreo de los equipos

| | |
|---------------------------|---|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none"> 1. Coordinar con producción la limpieza de los equipos de acuerdo al cronograma de muestreo. 2. Determinar los puntos críticos del equipo y calcular el área de muestreo. 3. Humedecer el hisopo con el suero fisiológico y proceder a hisopar las partes de la máquina a muestrearse, en algunos casos como en superficies lisas se ayuda de una plantilla plástica de 10 x 10 cm² desinfectada previamente y coloca el hisopo en los tubos que contienen 5,0 ml de suero fisiológico previamente esterilizados. 4. Llevar las muestras al laboratorio microbiológico y proceder a sembrar en las cajas que contienen TSA y SAB respectivamente hisopando las muestras recogidas sobre las cajas con medios de cultivo. 5. Proceder a incubar las muestras a 35-37°C para bacterias por 48 horas y a 25°C por 5-7 días para hongos. |
|---------------------------|---|

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

2.3.3 Procedimiento para Identificación de microorganismos por Tinción Gram

2.3.3.1 Metodología / procedimiento

Tabla 3-2. Análisis de las muestras

| | |
|---------------------------|---|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Aplicar la muestra a examinar sobre un portaobjetos, con ayuda de un asa que ha estado al rojo vivo, mezclar directamente con 1 o 2 gotas de solución fisiológica de cloruro de sodio y extender2. Secar al aire y proceder a la fijación por calor, para lo que se pasa 3 veces, el portaobjetos por la llama de un mechero Bunsen. Dejar enfriar3. Cubrir completamente el portaobjetos con la solución 1 (violeta cristal), teñir durante 1 minuto verter el líquido sobrante.4. Lavar brevemente con solución 2 (solución de lugol) para eliminar los restos.5. Cubrir el portaobjetos completamente con solución 2 (solución de lugol), y dejar actuar durante 1 minuto y desechar el exceso.6. Cubrir el portaobjetos aproximadamente durante 10-15 segundos con la solución 4 (solución decolorante), hasta eliminar el colorante anterior.7. Cubrir el portaobjetos con solución 5 (solución de safranina) durante 1 minuto.8. Enjuagar cuidadosamente con agua destilada durante 5 segundos.9. Secar, y observar al microscopio a 100X. |
|---------------------------|---|

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

2.3.4 Procedimiento para Identificación morfológica de microorganismos

2.3.4.1 Metodología / procedimiento

Tabla 4-2. Análisis microscópico de las colonias

| | |
|---------------------------|---|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Posterior a la incubación de las muestras de producto en TSA a 37°C por 48 horas y en medio de cultivo SAB por 7 días a 25°C, observar el crecimiento de colonias sobre dichos medios universales2. Tomar una muestras de la colonia y analizarla mediante tinción Gram y determinar si se trata de bacterias Gram positivas o Negativa siguiendo el procedimiento descrito en el POE: AC-25-017-013. Observar al microscopio la morfología celular de la colonia (bacilos, cocos, bastones, espirales) y agrupamiento (diplococos, racimos, rosarios). Así como la presencia o ausencia de <i>estructuras especiales</i>: flagelos, endosporas. |
|---------------------------|---|

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

Tabla 5-2. Siembra de las colonias en medios selectivos

| | |
|---------------------------|---|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Dependiendo del Gram de las colonias analizadas, proceder a preparar los medios selectivos según instrucciones del proveedor2. Tomar una colonia de la caja petri con asa previamente esterilizada al rojo vivo3. Bajo mechero estriar en medios selectivos para identificar morfología con el crecimiento de los microorganismos.4. Incubar los medios selectivos, si se trata de bacterias a 37°C por 48 horas y para hongos a 25°C por 7 días. |
|---------------------------|---|

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A., 2015

2.4 Determinación del tamaño muestral

El tamaño de la muestra corresponde a los ocho puntos críticos de control de la Sacheteadora Effytec;

- Punto 1: Tornillos de dosificación
- Punto 2: Tolva de dosificación
- Punto 3: Tornillos de alimentación
- Punto 4: Tolva
- Punto 5: Boquillas de dosificación
- Punto 6: Alineadores
- Punto 7: Ventana del área
- Punto 8: Pared del área

Los mismos que han sido muestreados antes y después del proceso de limpieza y desinfección, la metodología usada esta descrita en el POE N° AC-25-011-01 para el análisis microbiológico de equipos así como también el POE N° AC-25-017-01 para identificación de microorganismos por tinción Gram y el POE N° AC-25-023-01 para Identificación Morfológica de Microorganismos.

2.5 Unidad de análisis o muestra

La población que usaremos en esta evaluación serán las muestras tomadas de la Sacheteadora Effytec antes y después del lavado de la misma.

Las muestras que se tomaran para el estudio serán el hisopado de las superficies y el muestreo de superficies con placas de contacto de los ocho puntos críticos de la Sacheteadora Effytec, antes y después de la limpieza y desinfección correspondiente.

2.6 Criterios de aceptación

Para el análisis microbiológico:

Microbiológico Bacterias aeróbicas: $< 1 \text{ UFC/cm}^2$

Microbiológico Hongos y levaduras: $< 1 \text{ UPC/cm}^2$

CAPÍTULO III

3 MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los datos obtenidos en el área de Empaque y Laboratorio de Control de Calidad de la industria Farmacéutica Ginsberg Ecuador S.A de la ciudad de Quito han sido clasificados en forma de tablas y cuadros explicativos, con sus gráficos correspondientes.

3.1 Muestreo de los puntos críticos de control previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (1^{er} muestreo)

Tabla N° 1-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (1^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS | |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | N° DE COLONIAS AEROBIOS MESOFILOS | N° DE COLONIAS MOHOS Y LEVADURAS |
| Punto 1. Tornillos de dosificación | 7 UFC/cm2 | 3 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 6 UFC/cm2 | 4 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 10 UFC/cm2 | 5 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 8 UFC/cm2 | 4 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 6 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 4 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm2 | 1 UPC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

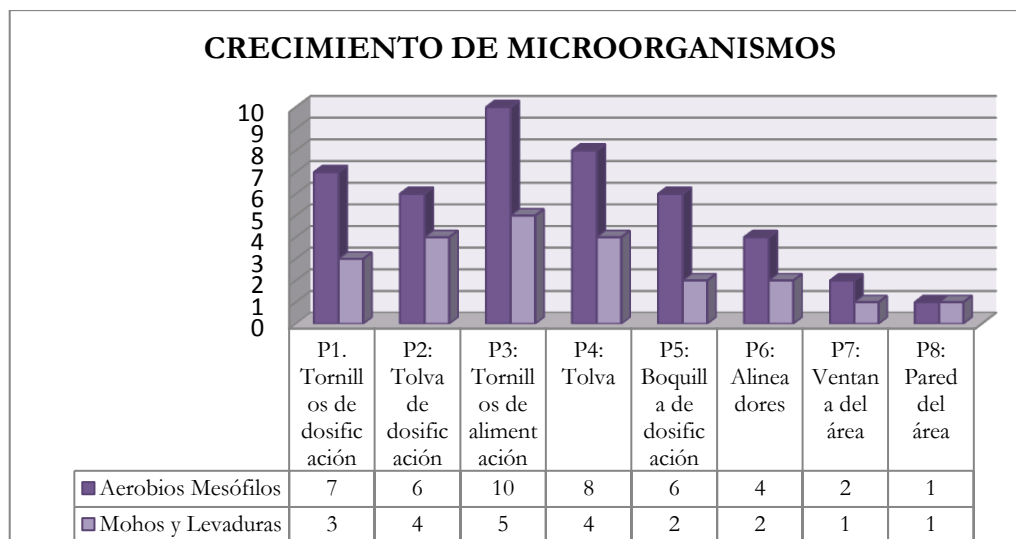


Gráfico 1-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (1^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Una vez finalizado el proceso de limpieza de la Sacheteadora Effytec se muestreo los ocho puntos críticos de control, luego de realizar la siembra en medios de cultivo tanto para hongos como para bacterias se evidencio el crecimiento de los mismos, los cuales encuentran por encima de los límites de control microbiológico propuestos por la European Standard CEN/TC 243/W G2 (1993). Es así que el proceso de limpieza de la maquina es insuficiente para eliminar la carga microbiana inicial presente en cada uno de los puntos muestreados, por ende el empleo del desinfectante Tego 51 seria de vital importancia para eliminar los microorganismos presentes.

3.2 Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (1^{er} muestreo).

Tabla 2-3: Resultados de la Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (1^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | BACTERIAS GRAM (+) | BACTERIAS GRAM (-) |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm2 | 2 UFC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 4 UFC/cm2 | 2 UFC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 6 UFC/cm2 | 4 UFC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 5 UFC/cm2 | 3 UFC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 3 UFC/cm2 | 3 UFC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 3 UFC/cm2 | 1 UFC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm2 | 0 UFC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm2 | 0 UFC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

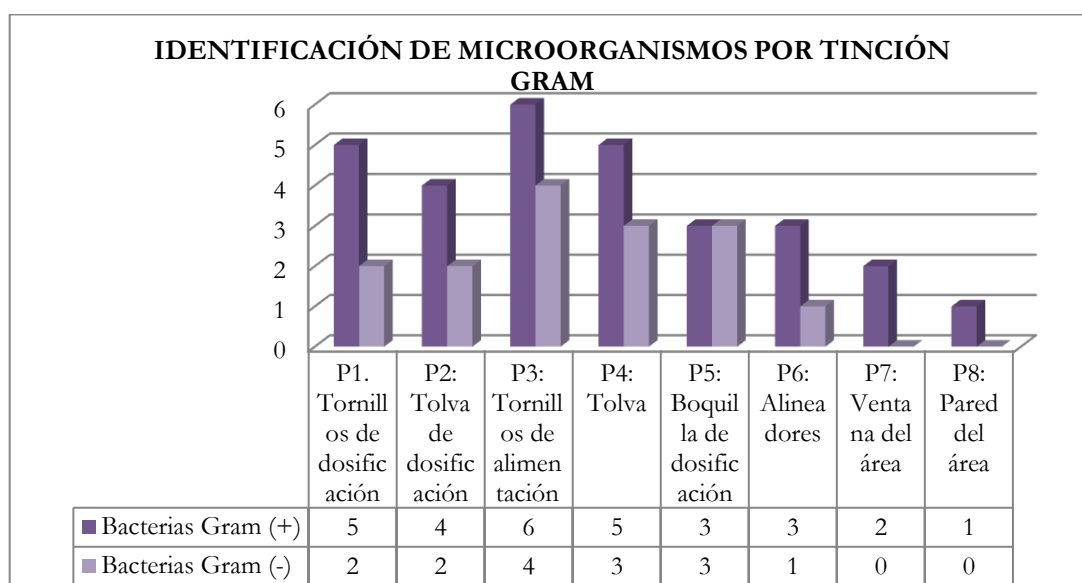


Gráfico 2-3: Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al uso del desinfectante Tego 51 (1^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Luego de realizar la coloración de Gram a cada una de las colonias encontradas, en Agar Soya Triptica, se observó en mayor frecuencia la presencia de bacterias Gram (+) y en menor cantidad bacterias Gram (-). Según bibliografía la gran mayoría de especies que conforman los

bacilos Gram positivos no son patógenos primarios ya que muchos forman parte de la flora normal del cuerpo humano y se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente.

3.3 Identificación de Hongos y levaduras aplicando coloración Azul de Lactofenol previo al proceso de desinfección con Tego 51 (1^{er} muestreo)

Tabla 3-3: Identificación de hongos y levaduras previo al uso del desinfectante Tego 51

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | HONGOS FILAMENTOSOS | LEVADURAS |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 2 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 3 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 4 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | 2 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

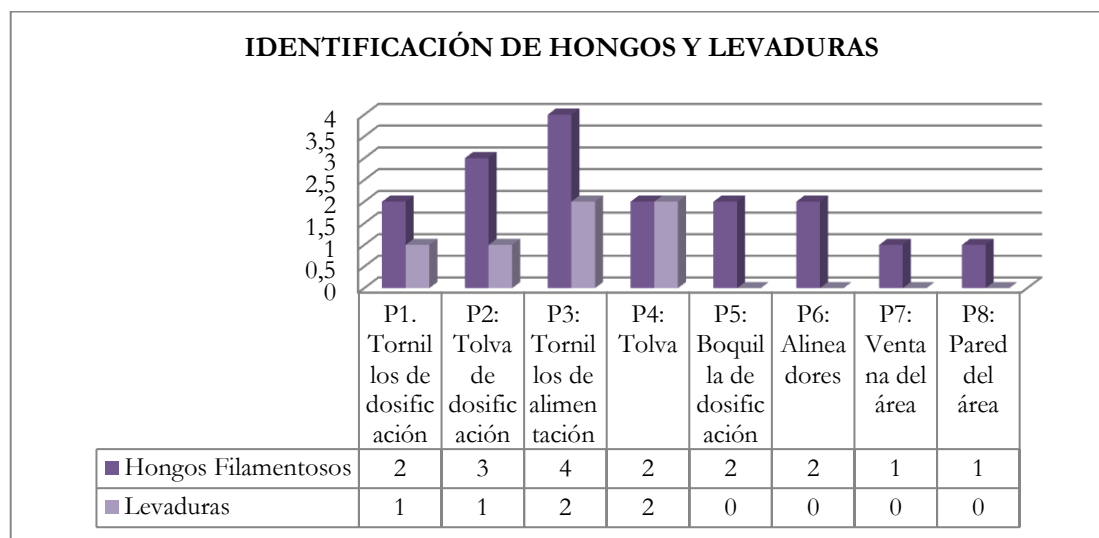


Gráfico 3-3: Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol previo al uso del desinfectante Tego 51

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Luego del proceso de limpieza de la Sacheteadora se obtuvo crecimiento de hongos y levaduras por encima de los límites microbiológicos permitidos, posterior al crecimiento de hongos y levaduras se realizó la identificación de los mismos aplicando la coloración Azul de Lactofenol a la muestra de cada una de las colonias encontradas, en Agar Sabouraud, se identificó según características macroscópicas y microscópicas la presencia de hongos filamentosos en mayor

proporción que las levaduras las cuales se encuentran en mínima cantidad en cuatro puntos de control en tanto que en los cuatro puntos restantes no hay crecimiento.

3.4 Identificación morfológica de microorganismos en la Sacheteadora Effytec previo al proceso de desinfección con Tego 51 (1^{er} muestreo)

Tabla 4-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del Tego 51 (1^{er} muestreo)

| PUNTOS CRITICOS DE CONTROL | AGAR MANITOL | AGAR MACCONKEY | AGAR CETRIMIDE | AGAR BISMUTO SULFITO |
|------------------------------------|-----------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 4 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | - |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 6 UFC/cm ² | - | 3 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | 5 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 3 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | 3 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | - |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm ² | - | - | - |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm ² | - | - | - |

Realizado por: Juan Carlos Colcha, 2016.

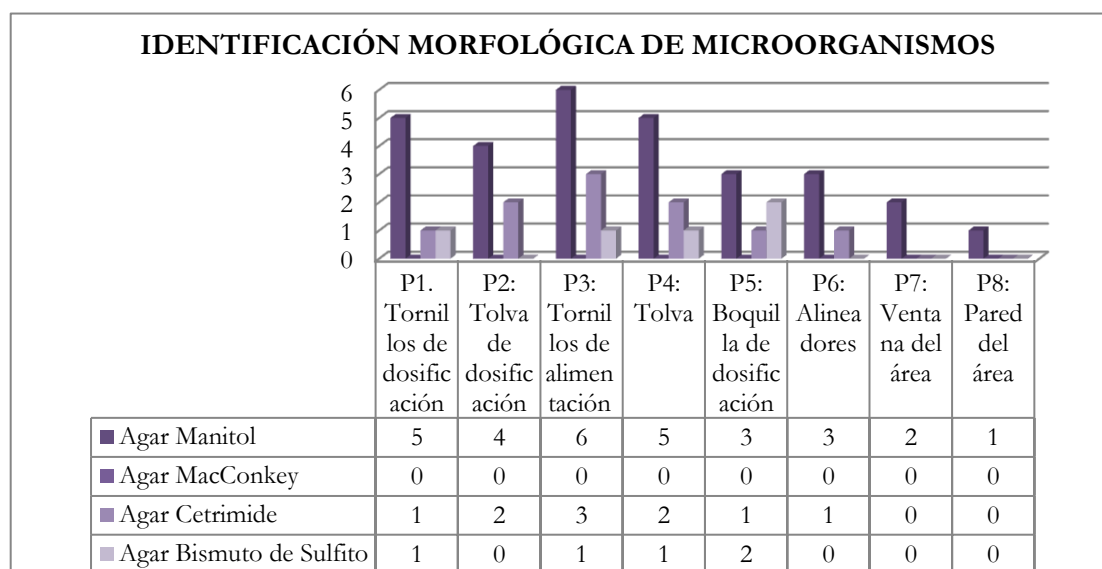


Gráfico 4-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del desinfectante Tego 51 (1^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Los microorganismos obtenidos del muestreo de los ocho puntos críticos de control previo al uso del desinfectante Tego 51 fueron identificados mediante características macroscópicas y microscópicas, la morfología de microorganismos crecidos en medios selectivos tales como agar Manitol, agar Cetrimide y agar Bismuto de Sulfito indican la presencia de microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi* los mismos que se encuentran por encima de los límites microbiológicos permitidos según la European Standard, es así que el empleo del desinfectante es fundamental para eliminar estos microorganismos capaces de causar enfermedades a los seres humanos.

3.5 Muestreo de los puntos críticos de control previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (2^{do} muestreo)

Tabla 5-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (2^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | Nº DE COLONIAS AEROBIOS MESOFILOS | Nº DE COLONIAS MOHOS Y LEVADURAS |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Punto 1. Tornillos de dosificación | 8 UFC/cm2 | 4 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 5 UFC/cm2 | 4 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 9 UFC/cm2 | 6 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 7 UFC/cm2 | 5 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 3 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 5 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm2 | 3 UPC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm2 | 1 UPC/cm2 |

Realizado por: Juan Carlos Colcha, 2016.

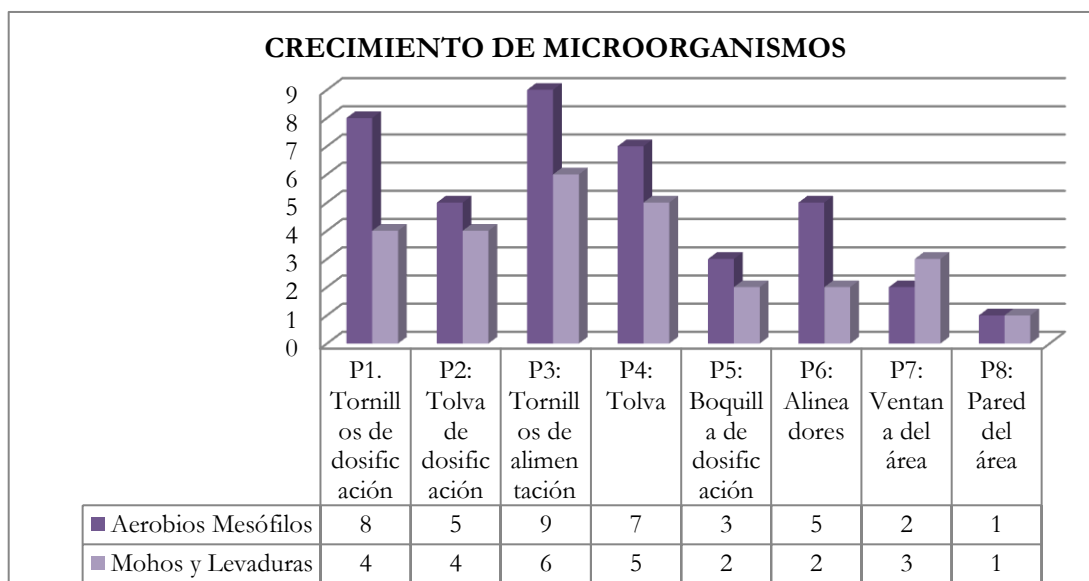


Gráfico 5-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (2^{do} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Luego del segundo muestreo en los ocho puntos críticos de control se evidencio la carga microbiana inicial presente en cada uno de los mismos, esto se realizó antes del proceso de desinfección pero inmediatamente después del procedimiento de limpieza observando el crecimiento tanto de bacterias como también de hongos y levaduras los mismos que se encuentran por encima de los límites de control microbiológico permitidos por la European Standard, evidenciando una clara contaminación microbiológica en cada uno de los puntos muestreados, de tal manera que el empleo del desinfectante seria de vital importancia para eliminar la carga microbiana inicial presente.

3.6 Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (2^{do} muestreo)

Tabla 6-3: Resultados de la Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (2^{do} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | BACTERIAS GRAM (+) | BACTERIAS GRAM (-) |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Punto 1. Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm ² | 3 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 3 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 7 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | 4 UFC/cm ² | 3 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 3 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | 4 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

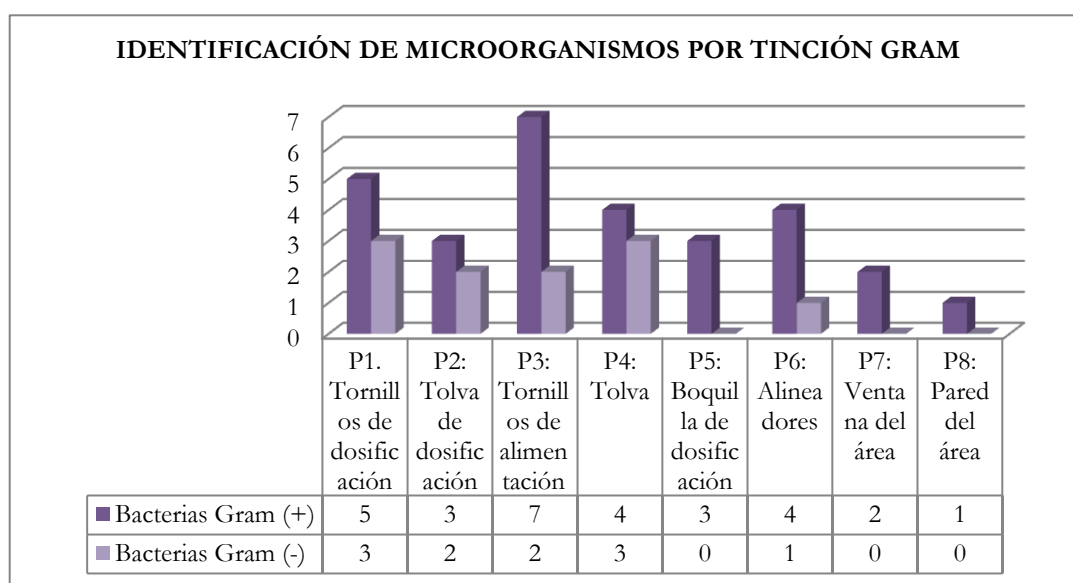


Gráfico 6-3: Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al uso del desinfectante Tego 51 (2^{do} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Luego de determinar el crecimiento de aerobios mesófilos previo al uso del desinfectante Tego 51 se procedió a realizar la coloración de Gram a cada una de las colonias encontradas, en Agar Soya Tripticasa, en la que se evidencia claramente la presencia de bacilos Gram positivos y bacilos Gram negativos los mismos que se encuentran fuera de los límites de aceptación

microbiológica según la European Standard. Según bibliografía la gran mayoría de especies que conforman los bacilos Gram positivos no son patógenos primarios ya que muchos forman parte de la flora normal del cuerpo humano y se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente.

3.7 Identificación de Hongos y levaduras aplicando coloración Azul de Lactofenol previo al proceso de desinfección con Tego 51 (2^{do} muestreo)

Tabla 7-3: Identificación de hongos y levaduras previo al uso del desinfectante Tego 51

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | HONGOS FILAMENTOSOS | LEVADURAS |
|------------------------------------|---------------------|-----------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 3 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 3 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 4 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 3 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 2 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 2 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 3 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

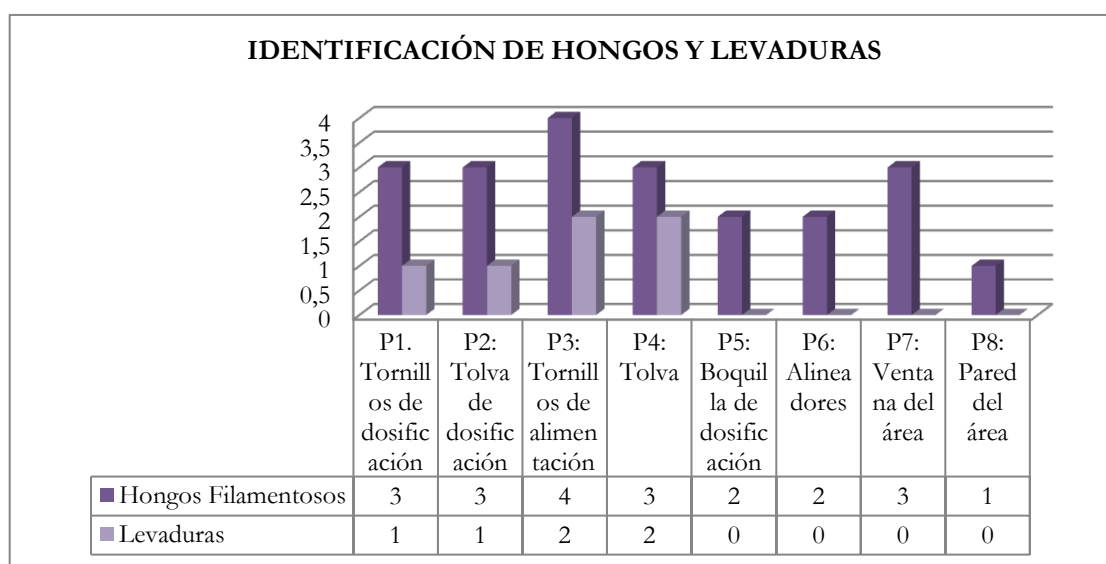


Gráfico 7-3: Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol previo al uso del desinfectante Tego 51 (2^{do} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016.

Luego del proceso de limpieza de la Sacheteadora se obtuvo crecimiento de hongos y levaduras por encima de los límites microbiológicos permitidos según la European Standard, posterior al crecimiento de hongos y levaduras se realizó la identificación de los mismos aplicando la coloración Azul de Lactofenol a la muestra de cada una de las colonias encontradas, en Agar Sabouraud, se identificó según características macroscópicas y microscópicas la presencia de hongos filamentosos en mayor proporción que las levaduras las cuales se encuentran en mínima cantidad en cuatro puntos de control en tanto que en los cuatro puntos restantes no hay crecimiento.

3.8 Identificación morfológica de microorganismos en la Sacheteadora Effytec previo al proceso de desinfección con Tego 51 (2^{do} muestreo)

Tabla 8-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del Tego 51 (2^{do} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | AGAR MANITOL | AGAR MACCONKEY | AGAR CETRIMIDE | AGAR BISMUTO SULFITO |
|------------------------------------|-----------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 3 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | - |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 7 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | 4 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 3 UFC/cm ² | - | - | - |
| Punto 6: Alineadores | 4 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | - |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UFC/cm ² | - | - | - |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm ² | - | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

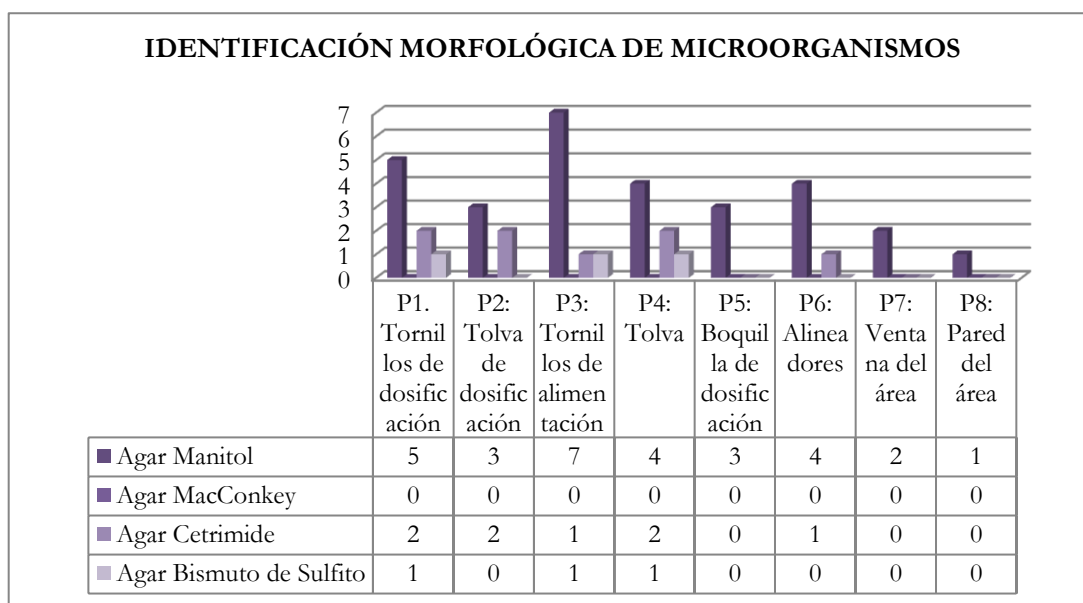


Gráfico 8-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del desinfectante Tego 51 (2^{do} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Los microorganismos obtenidos del segundo muestreo de los ocho puntos críticos de control previo al uso del desinfectante Tego 51 fueron identificados mediante características macroscópicas y microscópicas, la morfología de microorganismos crecidos en medios selectivos tales como agar Manitol, agar Cetrimide y agar Bismuto de Sulfito indican la presencia de microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella typhi* los mismos que se encuentran por encima de los límites microbiológicos permitidos según la European Standard, es así que el empleo del desinfectante es fundamental para eliminar estos microorganismos capaces de causar enfermedades a los seres humanos.

3.9 Muestreo de los puntos críticos de control previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

Tabla 9-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | Nº DE COLONIAS AEROBIOS MESOFILOS | Nº DE COLONIAS MOHOS Y LEVADURAS |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Punto 1. Tornillos de dosificación | 9 UFC/cm2 | 5 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 7 UFC/cm2 | 5 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 8 UFC/cm2 | 4 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 6 UFC/cm2 | 3 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 5 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 3 UFC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 1 UFC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm2 | 1 UPC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

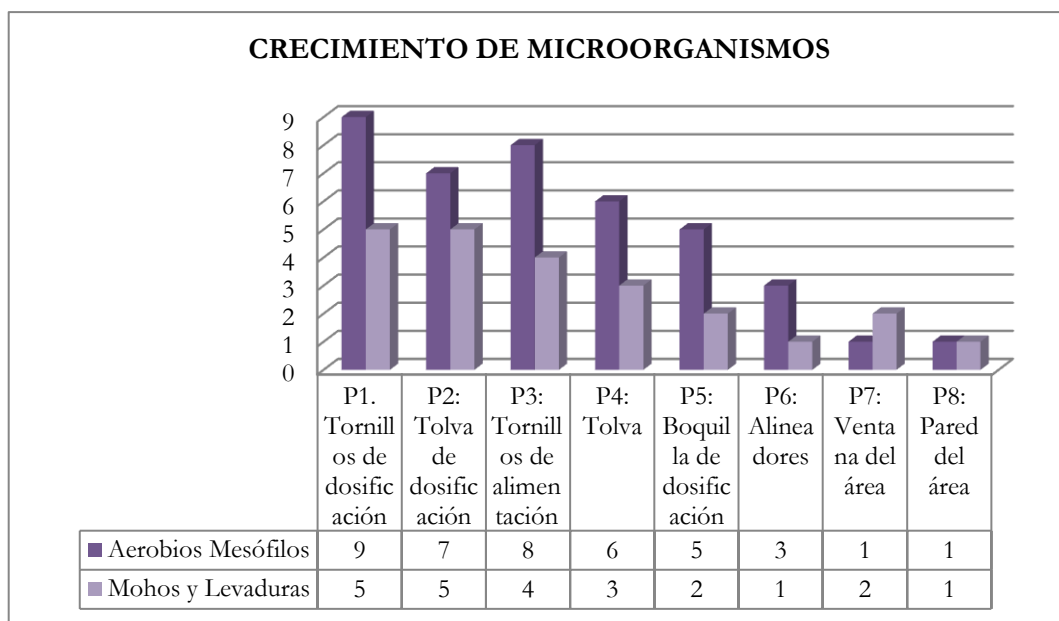


Gráfico 9-3: Crecimiento de microorganismos previo a la aplicación del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Una vez finalizado el proceso de limpieza de la Sacheteadora Effytec se muestreo los ocho puntos críticos de control, luego de realizar la siembra en medios de cultivo tanto para hongos

como para bacterias se evidencio el crecimiento de los mismos, los cuales encuentran por encima de los límites de control microbiológico propuestos por la European Standard. Es así que el proceso de limpieza de la maquina es insuficiente para eliminar la carga microbiana inicial presente en cada uno de los puntos muestreados, por ende el empleo del desinfectante Tego 51 seria de vital importancia para eliminar los microorganismos presentes.

3.10 Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (3^{er} muestreo).

Tabla 10-3: Resultados de la Tinción Gram previo al proceso de desinfección con Tego 51 (3^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | BACTERIAS GRAM (+) | BACTERIAS GRAM (-) |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm2 | 4 UFC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 4 UFC/cm2 | 3 UFC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 5 UFC/cm2 | 3 UFC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 4 UFC/cm2 | 2 UFC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 4 UFC/cm2 | 1 UFC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 2 UFC/cm2 | 1 UFC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 1UFC/cm2 | 0 UFC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm2 | 0 UFC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

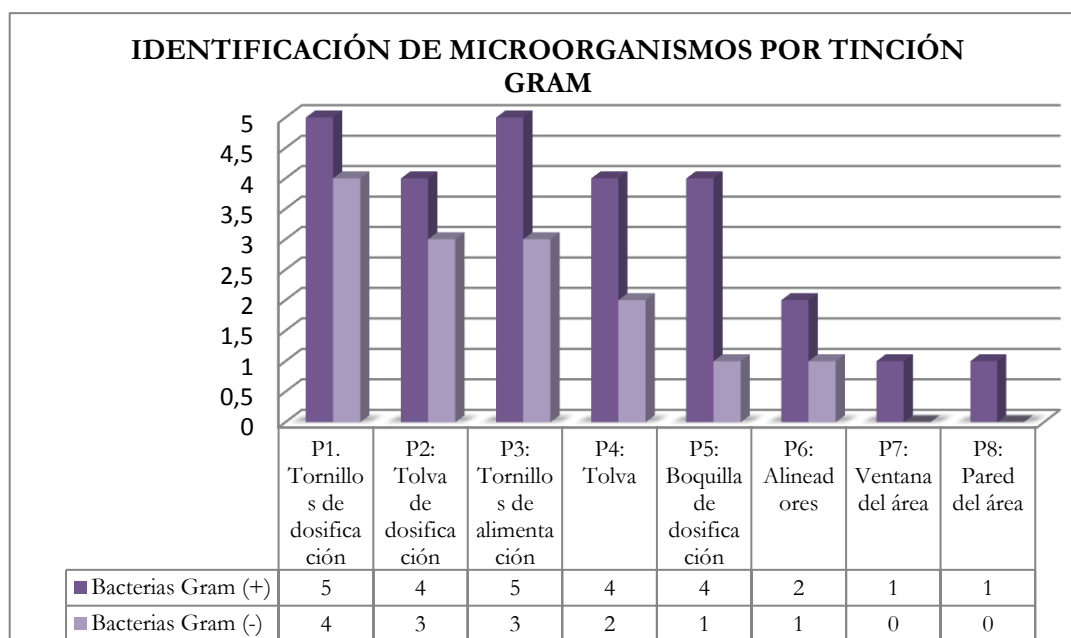


Gráfico 10-3: Identificación de bacterias aplicando Tinción Gram previo al uso del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

El crecimiento de aerobios mesófilos previo al uso del desinfectante Tego 51 se encuentra fuera de los límites de control microbiológico según la European Standard. Posterior al crecimiento de bacterias se realizó la identificación de los mismos mediante la aplicación de Tinción Gram esto para identificar la presencia de bacilos Gram positivos y Gram negativos evidenciando que los bacilos Gram (+) se encuentran en mayor cantidad que los bacilos Gram (-). Según bibliografía la gran mayoría de especies que conforman los bacilos Gram positivos no son patógenos primarios ya que muchos forman parte de la flora normal del cuerpo humano y se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente.

3.11 Identificación de Hongos y levaduras aplicando coloración Azul de Lactofenol previo al proceso de desinfección con Tego 51 (3^{er} muestreo)

Tabla 11-3: Identificación de hongos y levaduras previo al uso del desinfectante Tego 51

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | HONGOS FILAMENTOSOS | LEVADURAS |
|------------------------------------|---------------------|-----------|
| Punto 1. Tornillos de dosificación | 3 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 4 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 2 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | 2 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 1 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 6: Alineadores | 1 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |
| Punto 7: Ventana del área | 2 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |
| Punto 8: Pared del área | 1 UPC/cm2 | 0 UPC/cm2 |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

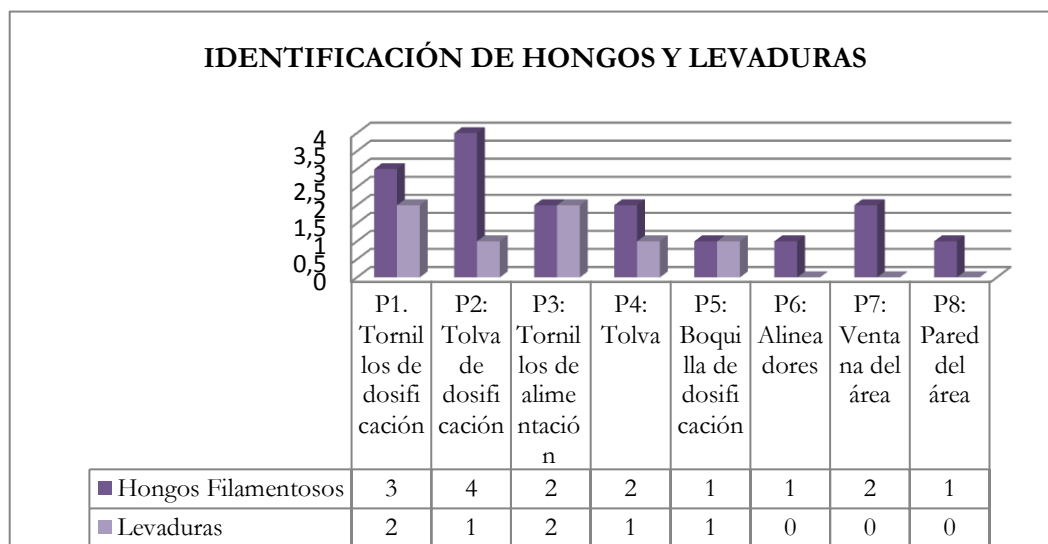


Gráfico 11-3: Identificación de hongos y levaduras con Azul de Lactofenol previo al uso del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego del proceso de limpieza de la Sacheteadora se obtuvo crecimiento de hongos y levaduras por encima de los límites microbiológicos permitidos por la European Standard, posterior al crecimiento de hongos y levaduras se realizó la identificación de los mismos aplicando la coloración Azul de Lactofenol a la muestra de cada una de las colonias encontradas, en Agar Sabouraud, se identificó según características macroscópicas y microscópicas la presencia de hongos filamentosos en mayor proporción que las levaduras las cuales se encuentran en menor cantidad.

3.12 Identificación morfológica de microorganismos en la Sacheteadora Effytec previo al proceso de desinfección con Tego 51 (3^{er} muestreo)

Tabla 12-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del Tego 51 (3^{er} muestreo)

| PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL | AGAR MANITOL | AGAR MACCONKEY | AGAR CETRIMIDE | AGAR BISMUTO SULFITO |
|------------------------------------|-----------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 5 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | 4 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | 5 UFC/cm ² | - | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | 4 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | 4 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | - |
| Punto 6: Alineadores | 2 UFC/cm ² | - | 1 UFC/cm ² | - |
| Punto 7: Ventana del área | 1 UFC/cm ² | - | - | - |
| Punto 8: Pared del área | 1 UFC/cm ² | - | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

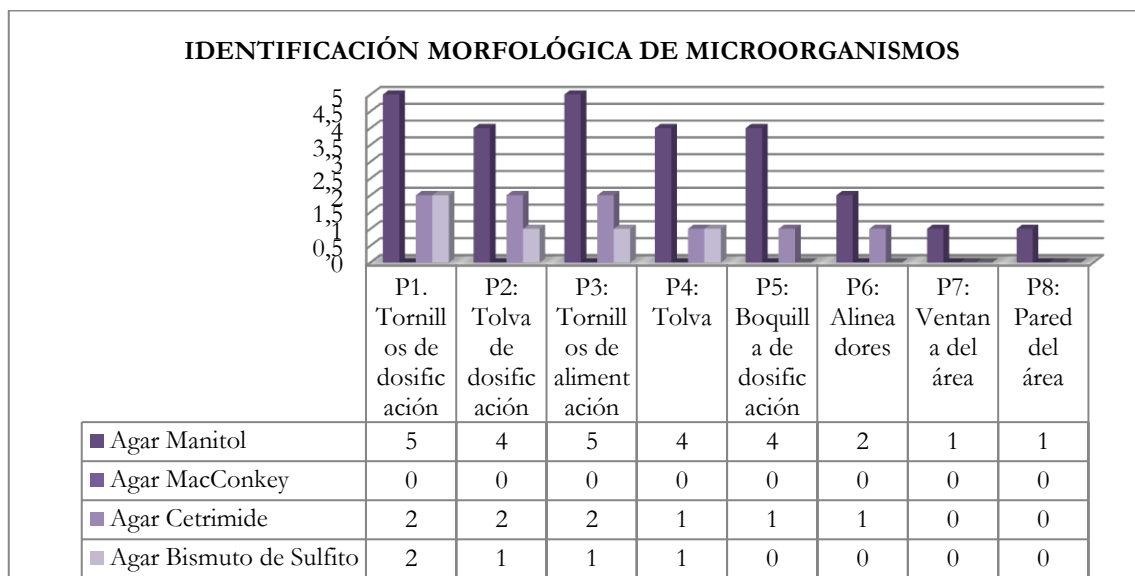


Gráfico 12-3: Identificación morfológica de microorganismos previo al uso del desinfectante Tego 51 (3^{er} muestreo)

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Los microorganismos obtenidos del tercer muestreo en los ocho puntos críticos de control previo al uso del desinfectante Tego 51 fueron identificados mediante características macroscópicas y microscópicas, la morfología de microorganismos crecidos en medios selectivos tales como agar Manitol, agar Cetrimide y agar Bismuto de Sulfito indican la presencia de microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi* los mismos que se encuentran por encima de los límites microbiológicos permitidos según la European Standard, es así que el empleo del desinfectante es fundamental para eliminar estos microorganismos patógenos capaces de causar enfermedades a los seres humanos.

3.13 Crecimiento de microorganismos luego de utilizar el desinfectante Tego 51 al 0,1%

Tabla 13-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* luego de utilizar el desinfectante Tego 51 al 0,1%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,1% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 5 UFC/cm ² | 4 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 4 UFC/cm ² | 4 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 6 UFC/cm ² | 4 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 5 UFC/cm ² | 5 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 3 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 3 UFC/cm ² | 3 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 2 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

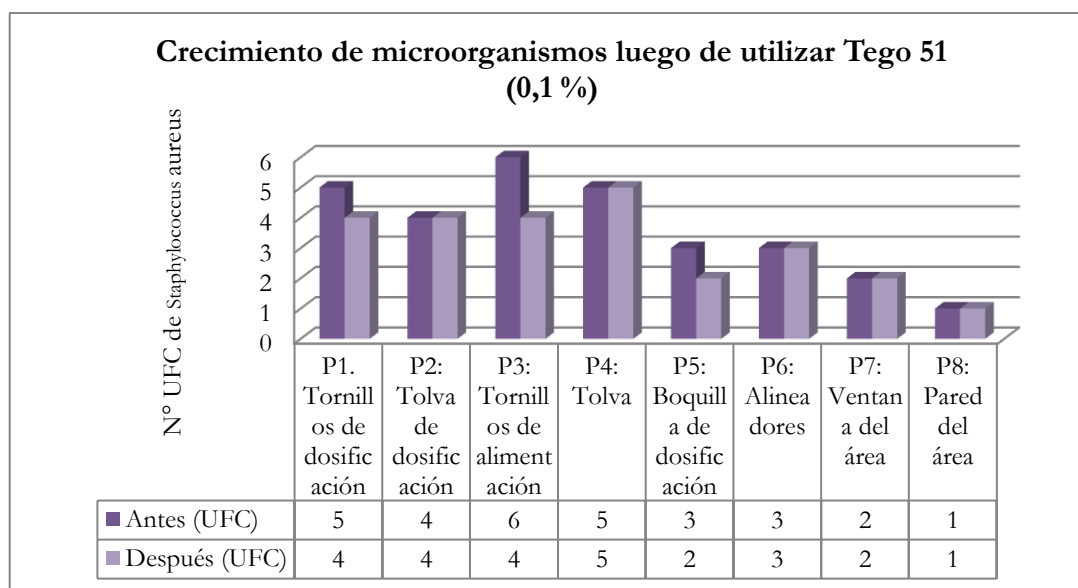


Gráfico 13-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

El número de unidades formadoras de colonias de *Staphylococcus aureus* presentes en los ocho puntos críticos de control antes del proceso de desinfección se encuentran fuera de los límites de control microbiológico permitidos por la European Standard. Luego de 10 minutos de

exposición del desinfectante Tego 51 al 0,1 % se evidenció el crecimiento de colonias en una cantidad similar a la encontrada antes del proceso de desinfección, lo cual indica que el uso del desinfectante a esta concentración no elimina la carga microbiana inicial presente, debido a que el número de colonias excede el límite permitido por la European Standard la cual indica que un proceso de desinfección se considera óptimo cuando el desinfectante utilizado a esta concentración sea capaz de eliminar la carga microbiana a menos de 1 ufc/cm².

| Nº de microorganismos | Interpretación |
|--------------------------------------|-----------------------|
| < 1 colonia / cm ² | Excelente |
| De 2 a 10 colonias / cm ² | Bueno |
| 11 o más colonias / cm ² | Limpiar la superficie |

Tabla 14-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,1 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 2 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 3 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 2 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

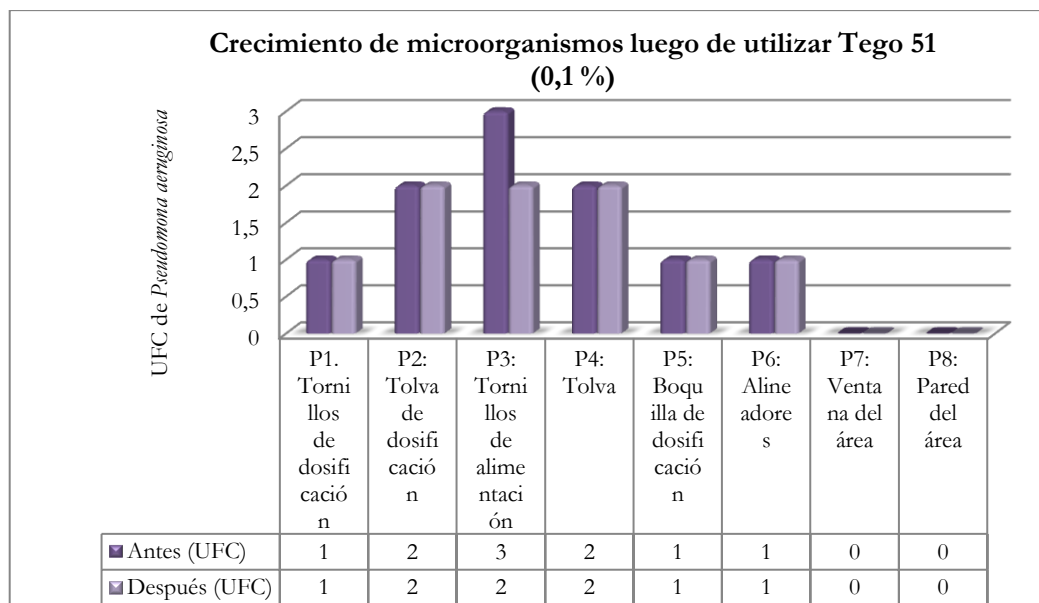


Gráfico 14-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

El número de unidades formadoras de colonias de *Pseudomonas aeruginosa* presentes en los ocho puntos críticos de control antes del proceso de desinfección se encuentran fuera de los límites de control microbiológico permitidos por la European Standard. Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 al 0,1 % se evidencio el crecimiento de un número similar de colonias a las encontradas antes del proceso de desinfección, lo cual indica que el uso del desinfectante a esta concentración no tiene acción bactericida sobre la carga microbiana inicial, debido a que el número de colonias excede el límite permitido por la European Standard, la cual indica que un proceso de desinfección se considera excelente cuando el desinfectante utilizado a esta concentración sea capaz de eliminar la carga microbiana inicial presente y reducirla a menos de 1 ufc/cm². Es ahí cuando podemos estar seguros de que la máquina esta lista para ser utilizada sin correr ningún riesgo de causar algún tipo de contaminación al producto y posteriormente causar alguna enfermedad a quien consuma ese medicamento.

Tabla 15-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* luego de utilizar Tego 51 al 0,1 %

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,1 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | - | - |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 2 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

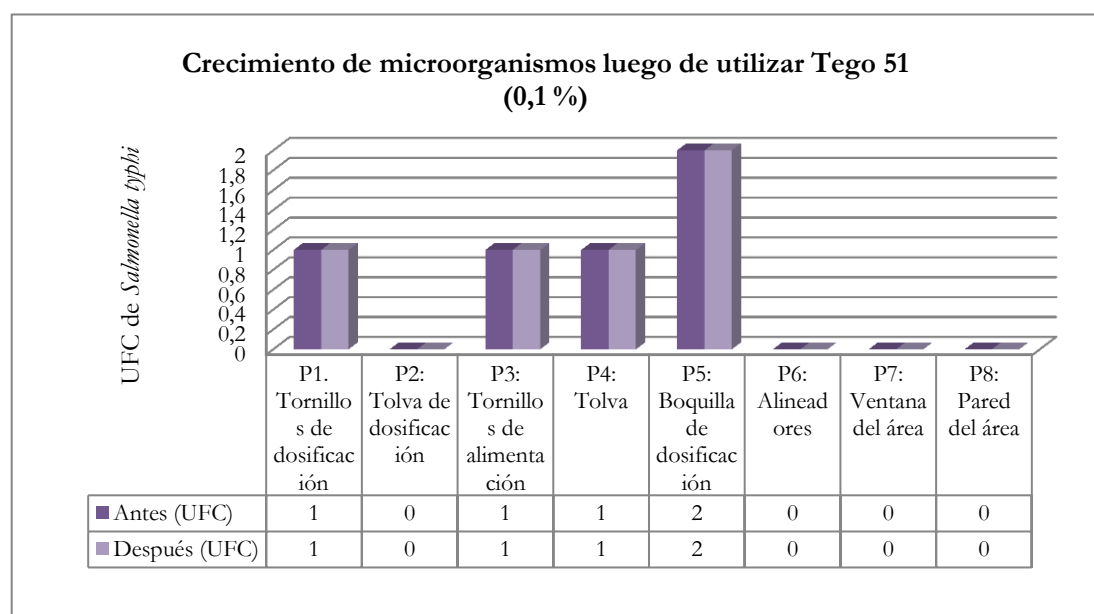


Gráfico 15-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Como resultado del primer muestreo se evidencio el crecimiento de unidades formadoras de colonias de *Salmonella typhi*, evidenciando crecimiento de las mismas en un número superior a la permitidas por el organismo de control que es la European Standard. Posterior a la limpieza se realizó la desinfección de la maquina Sacheteadora con el desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,1% durante 10 minutos de exposición. Transcurrido ese tiempo se evidencia resultados similares o parecidos a los encontrados antes de utilizar el desinfectante. Es así que el empleo del Tego 51 a esta concentración no muestra los resultados esperados ya que un

desinfectante es considerado como optimo cuando su acción bactericida elimine por completo este tipo de microorganismo patógeno capaz de causar problemas a la salud de quien lo consuma.

Tabla 16-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* luego de utilizar Tego 51 al 0,1%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,1 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 2 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 3 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 4 UPC/cm ² | 3 UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 2 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 2 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 2 UPC/cm ² | 2 UPC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 1 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

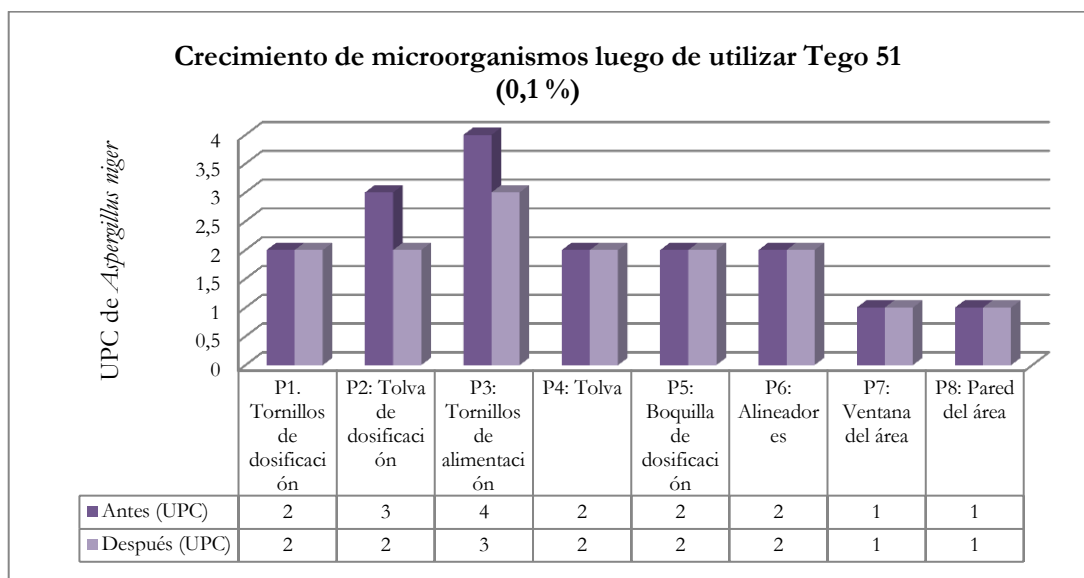


Gráfico 16-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Posterior al proceso de limpieza de la Sacheteadora se identificó la presencia de unidades propagadoras de colonias de *Aspergillus niger* en las cuales hay un claro crecimiento de este hongo el mismo que presenta niveles de contaminación microbiológica por encima de los límites aceptables propuestos por la European Standard. Luego de 10 minutos de exposición del

desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,1 % se analizaron los resultados, los mismos que indican crecimiento de *Aspergillus niger* en cantidad similar a la que se presenta antes del proceso de desinfección por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración no es el indicado para eliminar las colonias de hongos presentes en la máquina y de esta manera cumplir con los parámetros microbiológicos de la European Standard la cual indica que un equipo está libre de hongos o bacterias cuando el desinfectante sea capaz de reducir o eliminar en menos de una unidad propagadora de colonia.

Tabla 17-3: Crecimiento de *Candida albicans* luego de utilizar Tego 51 al 0.1%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,1 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|------------------|-----------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 1 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 1 UPC/cm2 | 1 UPC/cm2 |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 2 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 4: Tolva | | 2 UPC/cm2 | 2 UPC/cm2 |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | - | - |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

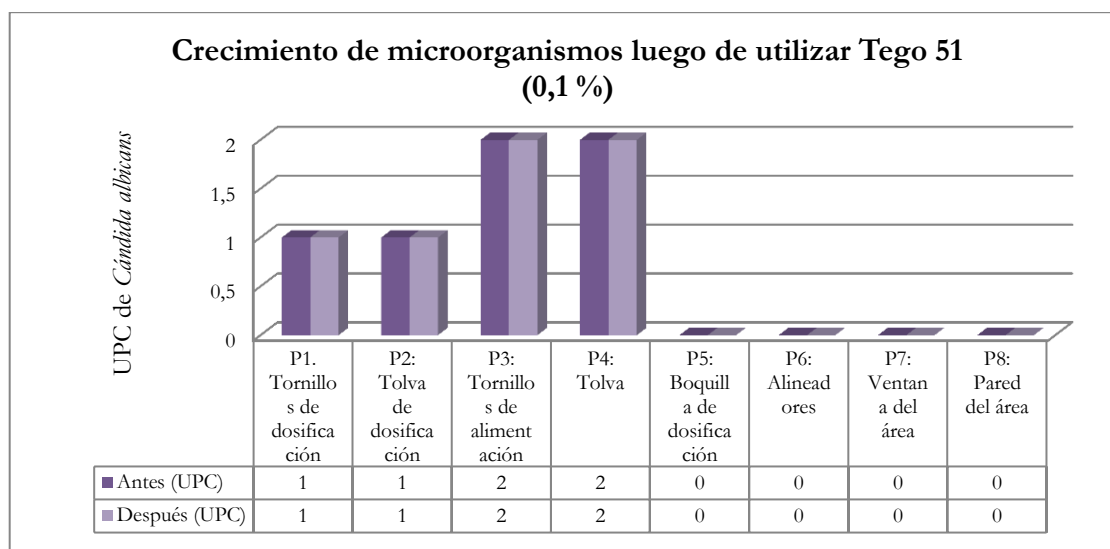


Gráfico 17-3: Crecimiento de *Candida albicans* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,1%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Posterior al proceso de limpieza de la Sacheteadora Effytec se identificó la presencia de unidades propagadoras de colonias de *Candida albicans* en las cuales hay un claro crecimiento

de esta levadura la misma que presenta niveles de contaminación microbiológica por encima de los límites aceptables propuestos por la European Standard la cual indica que la contaminación debe ser menor a 1 UPC. Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,1% se analizaron los resultados, los mismos que indican crecimiento de *Candida albicans* en la misma cantidad a la que se presenta antes del proceso de desinfección por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración no es el indicado para eliminar las colonias de levaduras presentes en la máquina y de esta manera cumplir con los parámetros microbiológicos de la European Standard.

3.14 Crecimiento de microorganismos luego de utilizar el desinfectante Tego 51 al 0,5%

Tabla 18-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* luego de utilizar Tego 51 al 0,5%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,5 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 5 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 3 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 7 UFC/cm ² | 2 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 4 UFC/cm ² | 1UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 3 UFC/cm ² | 1UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 4 UFC/cm ² | 2UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 2 UFC/cm ² | 0UFC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UFC/cm ² | 0UFC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

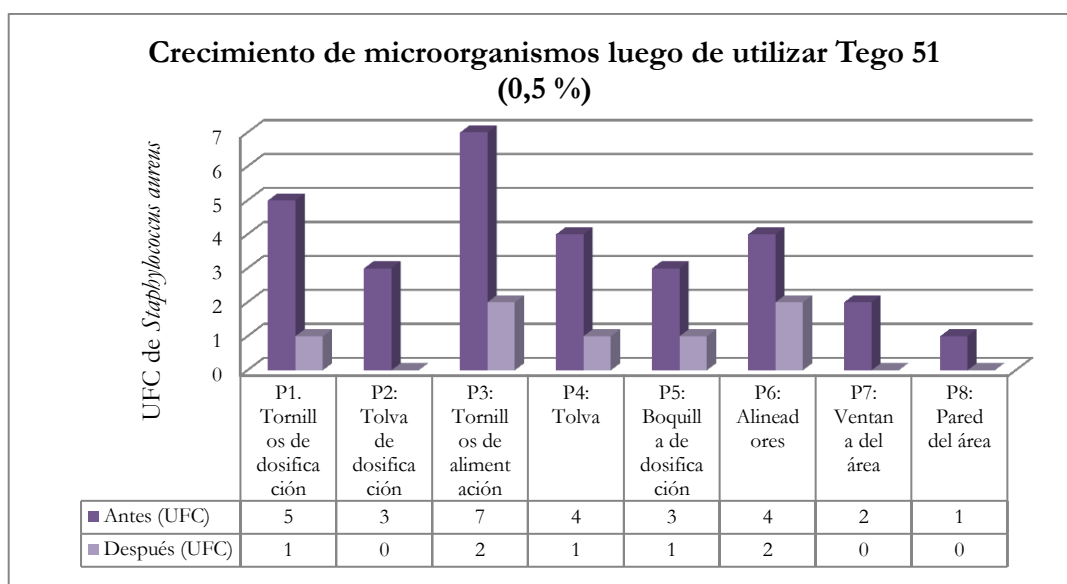


Gráfico 18-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5 %

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de realizar el segundo muestreo se puede observar la presencia de unidades formadoras de colonias de *Staphylococcus aureus* en cantidad superior a la permitida por la European Standard. Inmediatamente luego del proceso de limpieza de la Sacheteadora Effytec se realizó la desinfección con Tego 51 a una concentración del 0,5% durante un periodo de tiempo de 10 minutos, transcurrido este tiempo se puede observar una clara disminución de las unidades formadoras de colonia de *Staphylococcus aureus*, es así que el empleo del Tego 51 a esta concentración aun no es el indicado para eliminar en su totalidad esta bacteria, la misma que debe cumplir con el límite de aceptación microbiológica el cual dice que un proceso de desinfección se considera optimo cuando la acción bactericida del desinfectante elimine en su totalidad la presencia de bacterias patógenas en este caso el *Staphylococcus aureus*, una vez que cumpla con este parámetro se aceptación microbiológica el equipo está listo para el proceso de envasado de granulados y polvos efervescentes.

Tabla 19-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* luego de utilizar Tego 51 al 0,5%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,5 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 2 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | - | - |
| Punto 6: Alineadores | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

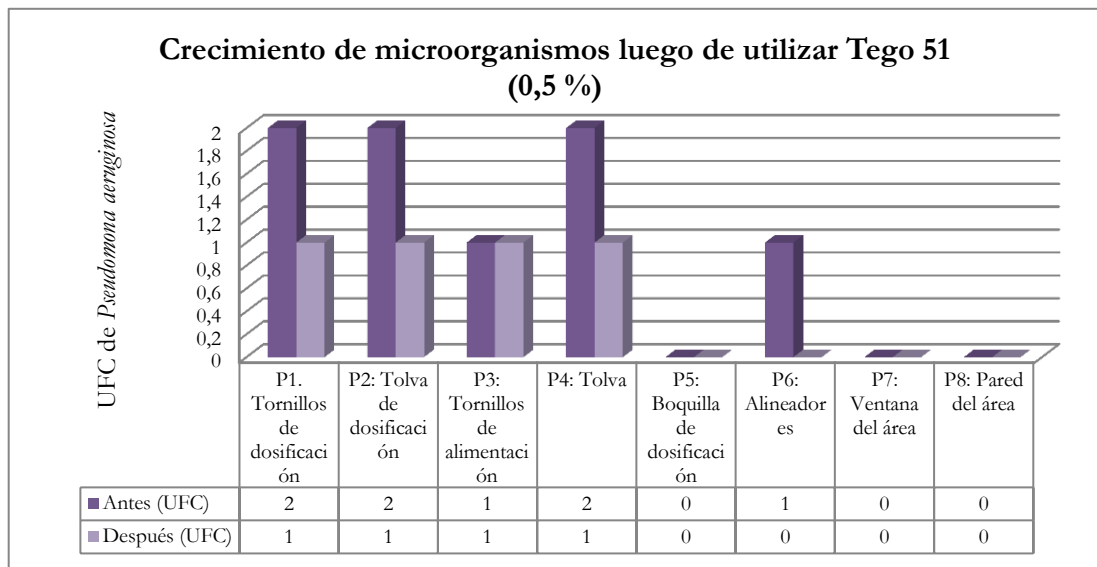


Gráfico 19-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Una vez terminado el segundo muestreo se puede observar la presencia de unidades formadoras de colonia de *Pseudomonas aeruginosa* en límites que sobrepasan el nivel aceptable según la European Standard. Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,5 % se analizaron los resultados del segundo muestreo, en la que se observa una clara disminución de colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en los puntos críticos de control donde hubo crecimiento, es así que el empleo del desinfectante a esta concentración no es el indicado para eliminar en su totalidad la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y cumplir con los límites de aceptación microbiológica el cual debe ser menor a una UFC, una vez que cumpla con estos parámetros se puede considerar que la maquina esta apta para ser utilizada en el proceso de envasado de productos farmacéuticos.

Tabla 20-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* luego de utilizar Tego 51 al 0,5%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,5 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | - | - |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 1 UFC/cm ² | 1 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | - | - |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

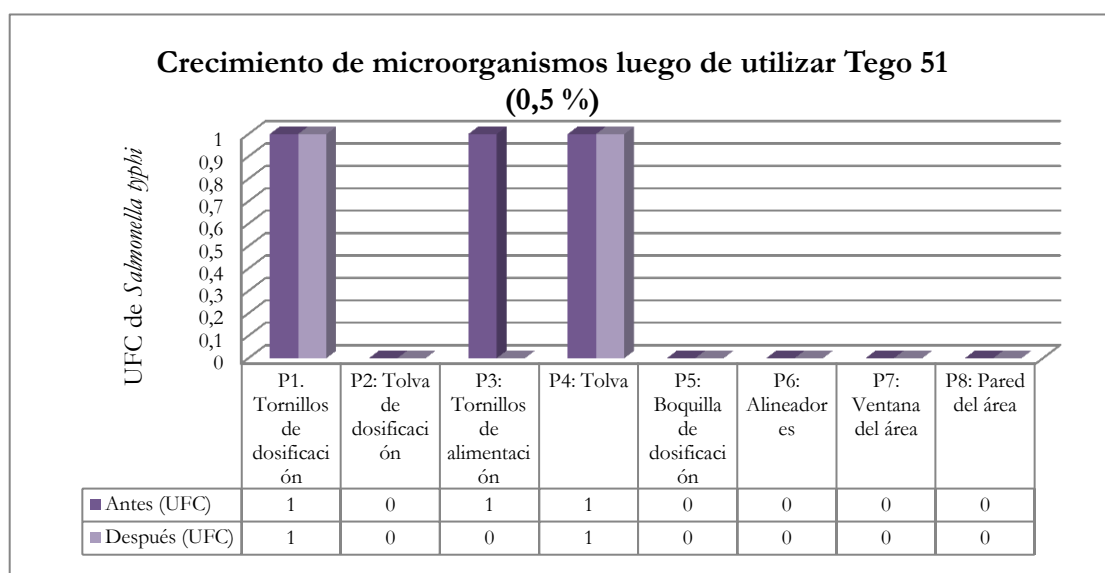


Gráfico 20-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,5 % se analizaron los resultados del segundo muestreo, en la que se observa una ligera disminución de colonias de *Salmonella typhi* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración aún no se puede considerar como óptimo ya que debe eliminarse en su totalidad la presencia de esta bacteria y cumplir con los límites de aceptación microbiológica el cual dice que un proceso de desinfección es excelente cuando la acción bactericida del mismo elimina en su totalidad la presencia de todo tipo de microorganismo dejando el equipo listo para el proceso de envasado.

Tabla 21-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* luego de utilizar Tego 51 al 0.5%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,5 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 3 UPC/cm ² | 1UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 3 UPC/cm ² | 1UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 4 UPC/cm ² | 2UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 3 UPC/cm ² | 1UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 2 UPC/cm ² | 0UPC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 2 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 3 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UPC/cm ² | 0UPC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

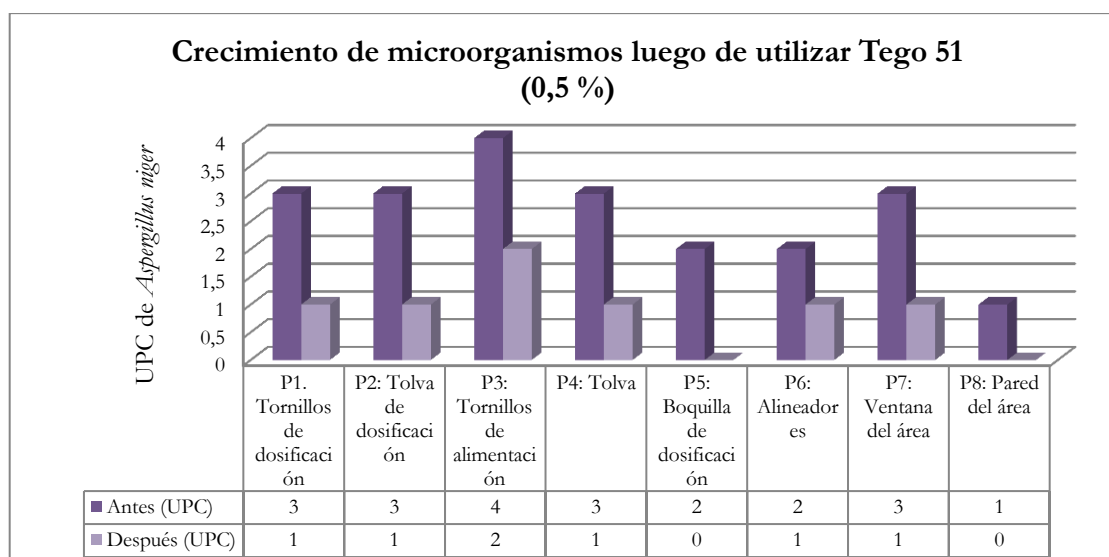


Gráfico 21-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Los resultados obtenidos del segundo muestreo indican crecimiento de unidades propagadoras de colonia de *Aspergillus niger* en un número superior al nivel microbiológico aceptable por la European Standard. Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 0,5 % se analizaron los resultados, en la que se observa una clara disminución de colonias de *Aspergillus niger* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración no es el óptimo para eliminar en su totalidad el *Aspergillus niger* y cumplir con lo dispuesto por el organismo de control el cual dice que el proceso de desinfección es el óptimo cuando ha reducido o eliminado

la carga microbiana a menos de una UFC. Una vez que se cumpla este parámetro el equipo puede ser utilizado de manera segura en el proceso de envasado.

Tabla 22-3: Crecimiento de *Candida albicans* luego de utilizar Tego 51 al 0,5%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 0,5% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 1 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolla de dosificación | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 2 UPC/cm ² | 1 UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolla | | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | - | - |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

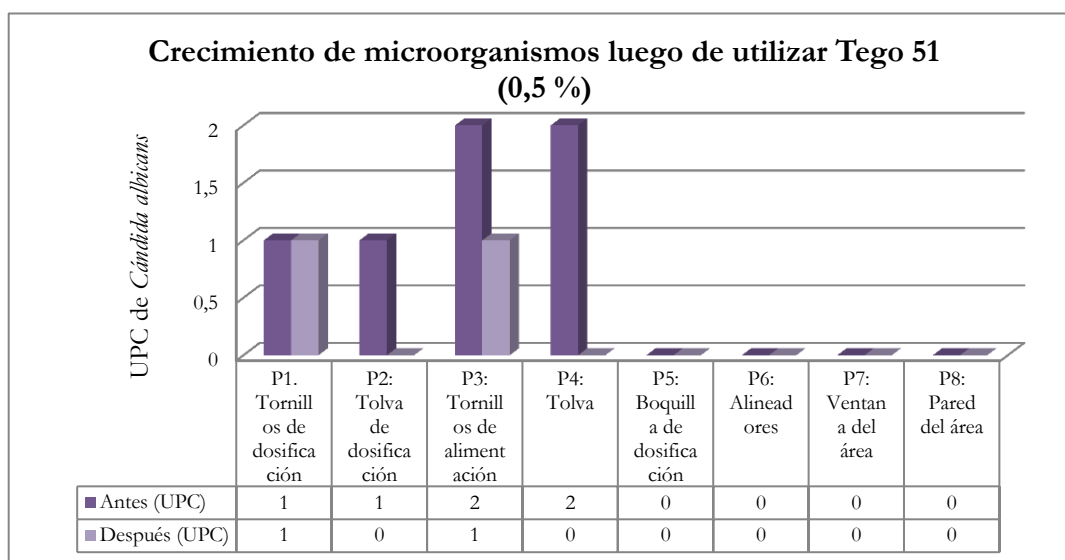


Gráfico 22-3: Crecimiento de *Candida albicans* antes y después de utilizar Tego 51 al 0,5%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Posterior al proceso de limpieza de la Sacheteadora Effytec se identificó la presencia de unidades propagadoras de colonias de *Candida albicans* en las cuales hay un claro crecimiento de esta levadura la misma que presenta niveles de contaminación microbiológica por encima de los límites aceptables propuestos por la European Standard, la cual indica que la contaminación debe ser menor a 1 UPC. Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una

concentración del 0,5% se evidencia una clara disminución del número de colonias de *Candida albicans* en los puntos donde hubo crecimiento, es así que el desinfectante a esta concentración no es el indicado ya que no cumple con los parámetros de aceptación microbiológica el cual dice que debe eliminar en su totalidad la presencia de todo tipo de microorganismo presente, garantizando así el proceso de envasado.

3.15 Crecimiento de microorganismos luego de utilizar el desinfectante Tego 51 al 1,0%

Tabla 23-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* luego de utilizar Tego 51 al 1,0%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 1,0% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 5 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 4 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 5 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 4 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 4 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

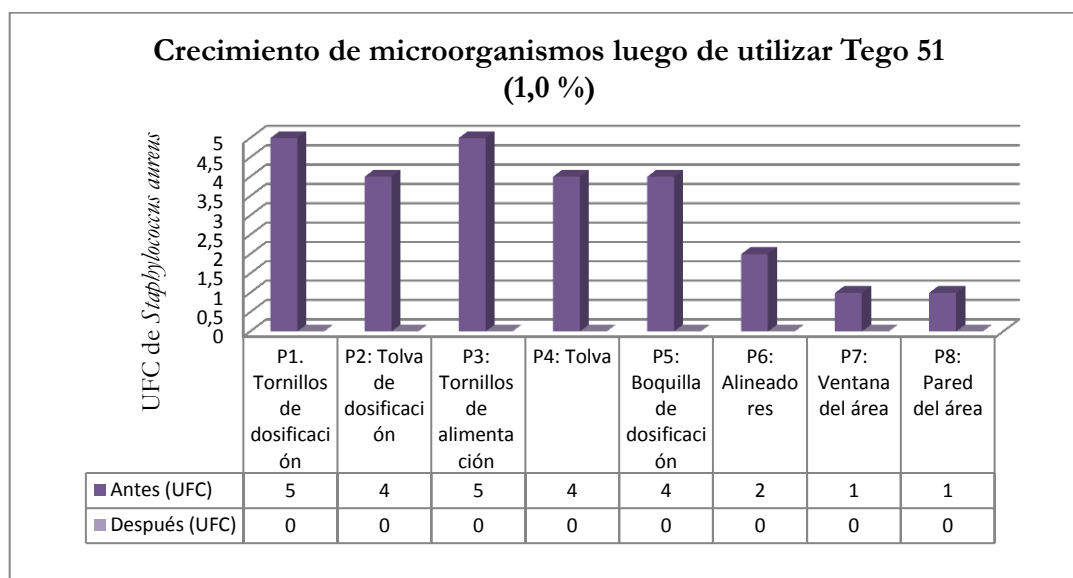


Gráfico 23-3: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0 % se analizaron los resultados del tercer muestreo, el mismo que indican una reducción total del número de colonias de *Staphylococcus aureus* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración es el indicado ya que elimina en su totalidad el microorganismo presente además que cumple con los límites aceptación microbiológica el cual indica que un proceso de desinfección es el óptimo cuando la acción bactericida del desinfectante haya eliminado en su totalidad la presencia de todo tipo de microorganismo en este caso el *Staphylococcus aureus* el cual según la European Standard el número de colonias debe ser < 1 UFC. Una vez que cumpla con estos parámetros microbiológicos el equipo puede ser utilizado para el envasado de productos farmacéuticos.

Tabla 24-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* luego de utilizar Tego 51 al 1,0%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 1,0% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolla de dosificación | | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolla | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

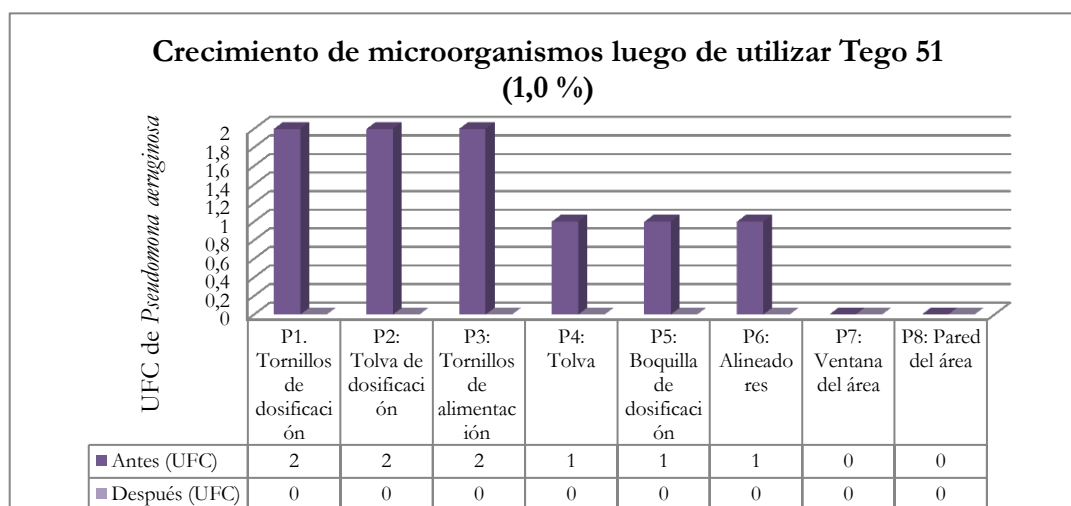


Gráfico 24-3: Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0 % se analizaron los resultados del tercer muestreo, en la que se observa claramente una reducción total de colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración es el óptimo ya que cumple con los límites de aceptación microbiológicos propuestos por European Standard el mismo que indica que un proceso de desinfección es el indicado cuando la acción bactericida del desinfectante elimina en su totalidad todo tipo de microorganismo presente, en este caso la *Pseudomonas aeruginosa*. Una vez que se cumpla con todos estos parámetros microbiológicos el equipo puede ser utilizado para el proceso de envasado de productos farmacéuticos.

Tabla 25-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* luego de utilizar Tego 51 al 1,0%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 1,0% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 2 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 1 UFC/cm ² | 0 UFC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | - | - |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

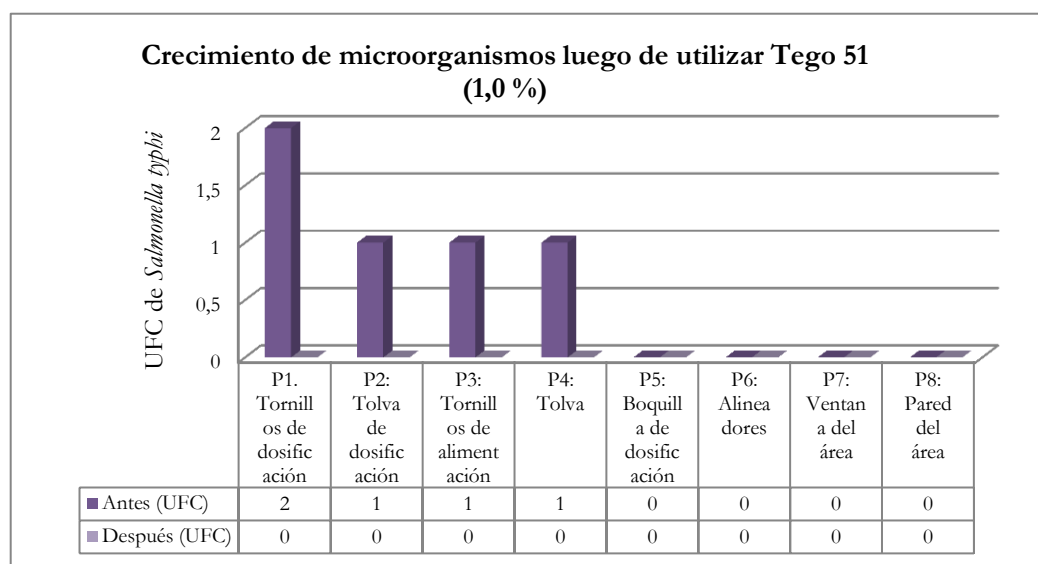


Gráfico 25-3: Crecimiento de *Salmonella typhi* antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0 % se analizaron los resultados del tercer muestreo, en la que se observa la eliminación total de colonias de *Salmonella typhi* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración es el indicado ya que cumple con los parámetros de aceptación microbiológica propuestos por la European Standard el cual indica que un proceso de desinfección es aceptable cuando la acción bactericida del mismo haya eliminado en su totalidad todo tipo de microorganismo presente en el equipo dejando el equipo listo para el proceso de envasado.

Tabla 26-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* luego de utilizar Tego 51 al 1,0%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 1,0 % | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 3 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolva de dosificación | | 4 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolva | | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 7: Ventana del área | | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 8: Pared del área | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

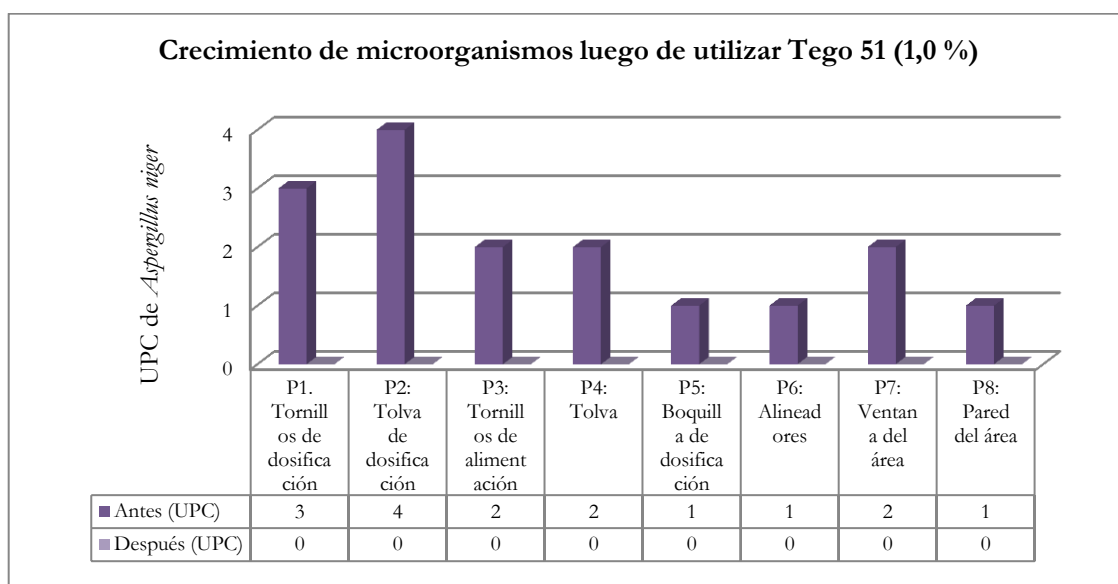


Gráfico 26-3: Crecimiento de *Aspergillus niger* antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0 % se analizaron los resultados del tercer muestreo, en la que se observa claramente una reducción total de colonias de *Aspergillus niger* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración es el indicado ya que cumple con los límites de aceptación microbiológica propuestos por la European Standard el cual indica que un proceso de desinfección es aceptable cuando la acción bactericida del mismo elimine por completo todo tipo de microorganismo presente en el equipo por lo mismo el desinfectante Tego 51 cumple su acción fungicida eliminando en su totalidad la carga inicial de hongos presente.

Tabla 27-3: Crecimiento de *Candida albicans* luego de utilizar Tego 51 al 1,0%

| Puntos Críticos de Control | Tiempo de contacto (minutos) | TEGO 51 al 1,0% | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Antes | Después |
| Punto 1: Tornillos de dosificación | 10 minutos | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 2: Tolla de dosificación | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 3: Tornillos de alimentación | | 2 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 4: Tolla | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 5: Boquilla de dosificación | | 1 UPC/cm ² | 0 UPC/cm ² |
| Punto 6: Alineadores | | - | - |
| Punto 7: Ventana del área | | - | - |
| Punto 8: Pared del área | | - | - |

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

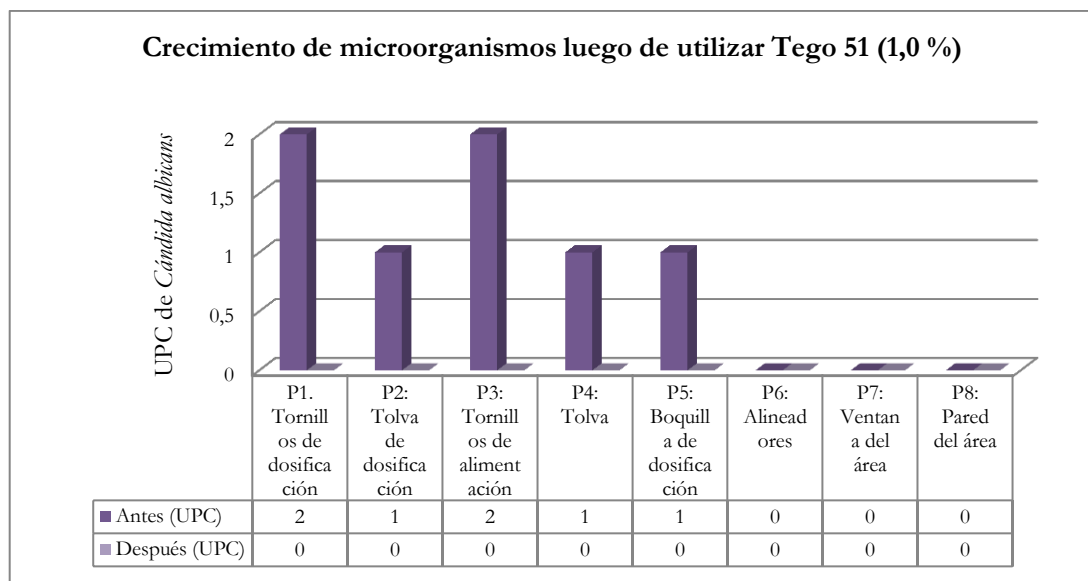


Gráfico 27-3: Crecimiento de *Candida albicans* antes y después de utilizar Tego 51 al 1,0%

Realizado por: COLCHA Juan Carlos, 2016

Luego de 10 minutos de exposición del desinfectante Tego 51 a una concentración del 1,0 % se analizaron los resultados del tercer muestreo, en la que se observa claramente una reducción total del número de colonias de *Candida albicans* en los puntos críticos de control posterior al uso del desinfectante, por lo que el empleo del desinfectante a esta concentración es el óptimo ya que elimina en su totalidad la carga microbiana, además que cumple con los límites de aceptación microbiológica propuestos por la European Standard el mismo que indica que un proceso de desinfección se considera aceptable cuando la acción bactericida del desinfectante haya reducido en su totalidad el número de microorganismos presentes en la máquina. Esto indica que el desinfectante Tego 51 cumple su acción fungicida eliminando en su totalidad la carga inicial de levaduras presente, dejando listo el equipo para el proceso de envasado.

CONCLUSIONES

De la evaluación microbiológica de la eficacia del desinfectante Tego 51 al 0,1%, 0,5% y 1%, se determina que la concentración efectiva de Tego 51 es al 1%, concentración capaz de eliminar la carga microbiana inicial, los microorganismos presentes en la Sacheteadora Effytec como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* y *Cándida albicans*, luego de 10 minutos de exposición del desinfectante cumpliendo así con los límites de aceptación microbiológicos y garantizando la eficacia del mismo en el proceso de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec en Ginsberg Ecuador S.A.

Las técnicas de muestreo aplicadas en la Sacheteadora Effytec para la evaluación de Tego 51 al 0,1 %, 0,5% y 1% son la técnica de muestreo directo de superficies por hisopo y placas de contacto, en superficies regulares como pared y ventana de la Sacheteadora Effytec, el muestreo por hisopo en superficies irregulares se aplicó a tornillos de alimentación, tolva, tolva de dosificación, alineadores, tornillo de dosificación y boquillas de dosificación.

De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que los Procedimientos Operativos Estandarizados establecidos, tales como el análisis microbiológico de equipos, identificación de microorganismos por tinción Gram e identificación morfológica de microorganismos son los adecuados para realizar los procedimientos de limpieza y desinfección de la Sacheteadora Effytec en Ginsberg Ecuador S.A.

RECOMENDACIONES

La capacitación al personal de empaque encargado de la Sacheteadora Effytec es un punto importante para que la evaluación sea un éxito, se debe generar en los operadores conciencia de la importancia de una buena limpieza de los equipos, para en los posterior evitar una contaminación cruzada entre los diferentes productos fabricados y el detergente, y cumplir de esta manera con las Buenas Prácticas de Manufactura.

Para obtener resultados confiables en el momento del muestreo evitar tocar la cabeza del hisopo con las manos de esta manera evitar tener resultados erróneos.

La preparación y la concentración del desinfectante deben realizarse cuidadosamente, ya que de esto depende el éxito del proceso de limpieza y desinfección y la inhibición de la carga microbiana presente en el área de empaque.

Preparar la solución desinfectante con agua purificada con el fin de evitar impurezas y posibles contaminaciones que alteren la calidad del producto a utilizar en los procesos de limpieza y desinfección.

Se recomienda un tiempo de exposición del desinfectante entre 10 y 15 minutos de esta manera garantizar la actividad de los mismos y el éxito del proceso de desinfección.

En caso de emplearse un nuevo desinfectante o de cambiar la concentración del desinfectante actualmente utilizado, deberá ser nuevamente evaluado para verificar su eficacia.

Se recomienda que este trabajo se complemente con la validación del procedimiento de limpieza y desinfección tanto para equipos como para las áreas del laboratorio, permitiendo así obtener datos más precisos y confiables.

GLOSARIO

| | |
|--------------|--|
| BPM | Buenas Prácticas de Manufactura |
| SGC | Sistema de Gestión de la Calidad |
| FDA | Administración de Drogas y Alimentos |
| ARCSA | Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria |
| USP | Farmacopea de los Estados Unidos |
| mo | Microorganismos |
| POE | Procedimiento Operativo Estándar |
| UPC | Unidades Propagadoras de Colonias |
| UFC | Unidades Formadoras de Colonias |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| BPF | Buenas Prácticas de Fabricación |
| AM | Ambiente |
| FL | Flujo Laminar |
| PC | Punto Crítico |
| SAB | Agar Sabouraud Dextrosa |
| TSA | Tripticasa Soya Agar |
| API | Ingredientes farmacéuticos activos |
| PLC | Control Lógico Programable |

BIBLIOGRAFÍA

ALDANA, L. Efectos de desinfectantes y antimicrobianos naturales frente a cepas de *Listeria monocytogenes* (tesis). (Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia. 2012. pp. 32.

ALVEY, P. Not seeing is believing-A non-Traditional Approach for Cleaning Validation. 2ªed. New York-EEUU: J Valid Technol. 2011, pp. 189-193.

ANDERSON, C. “Continuosprovidone phenol solutions”. *Journal South Medic*, vol. 17, nº12 (2011), (United State of America) pp. 654-657.

ARIAS, J.C. “Control de las poblaciones microbianas Esterilización y Desinfección”. *Aplicaciones a la Microbiología Industrial*, vol. 10, nº3 (2006), (Colombia) pp. 1-17.

BPF. Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles. 2ª ed. Cuba: MundiPrensa, 2002, pp. 59.

CUESTA, M. Evaluación del peróxido de hidrogeno como desinfectante. *Rev Cubana Farm*, vol. 4, nº9 (2004), (Cuba) pp. 15

DENYER, B. Pharmaceutical Microbiology. 6ª ed, New York: Blackwell Science, 2002, pp. 82

FLEITAS, A. Compuestos sanitizantes y sus propiedades. *Asociación Química Colombiana*, nº 3 (2014), (Colombia) pp.19-23.

FRANKLIN, T. Biochemistry of antimicrobial action. 9ª ed. Londres- Inglaterra: Chapman and Hall, 2009, pp. 512.

GALLARDO, C. Determinación de la actividad antibacteriana de desinfectantes y detergentes bactericidas. *Rev. Alimentaría*, nº335 (2010), (México) pp. 47 - 53.

GARDEDNER, D. Introduction to sterilization, disinfection and infection control. 12ªed, New York: Churchill Livintone, 2013, pp. 156.

GINSBERG ECUADOR S.A., Política de calidad (2014), p.10

GINSBERG ECUADOR S.A., Protocolo de calificación (2015), p.4-5

Guía de buenas prácticas de manufactura para la industria de productos farmacéuticos [en línea] 2012. [Consulta: 22 diciembre 2015]. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/u24/Guia_Validacion_GMP.pdf

HENAO, J. Química Inorgánica. 12ª ed. Bogotá-Colombia: Santillana. 2005, pp.169.

HERRUZO, G. Desinfectantes españoles para el siglo XXI. 8ª ed. Madrid-España: Anales de la Real, Academia Nacional de Medicina, 2000, pp. 806.

HOLAH, J. “Desinfectant test methods for food hygiene, institutional, industrial and domestic applications”. *Journal International Biodeterioration y Biodegradation*, n°36 (2005) (United State of America) pp. 355 - 365.

I.C.M.S.F. Ecología microbiana de los alimentos. 6ª ed. Zaragoza-España: Acribia, 2010, pp. 165.

JAWETZ, E. Microbiología médica. 12ª ed. México: El Manual Moderno S.A., 2001, pp. 165.

JOKLINK, W. Zinsser Microbiología. 22ª ed. Buenos Aires-Argentina: Médica Panamericana S.A. 2012, pp. 302.

JORGE, B. Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de las Américas [en línea] Bogotá: Multimania 2012. [Consulta: 10 noviembre 2015] Disponible en: <http://usuarios.multimania.es/bazericol/DESINFECC.htm>

MANRING, E. Toxicity of and intravenous infusions of propyl alcohol. 35ª ed. Londres-Inglaterra: Toxicol. 2010, pp. 503.

MARTÍNEZ, J. *Desinfección*. 2ª ed. Medellín-Colombia: Médica Internacional Ltda. 2012, pp.11.

MCDONNELL, R. Antiseptics and Desinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Review*, vol. 12, n° 1 (2010), (United State of America) pp. 147-179.

MOSSEI, B. Microbiología de Alimentos. 4ª ed. Zaragoza –España: Acribia, 2013, pp. 236.

PELCZAR, M. Microbiología. 8^a ed. México: MacGraw Hill. 2009, pp. 250.

PELCZAR, M. *Microbiología*. 8^a ed. México: MacGraw Hill. 2009, pp. 826.

POOLE, K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol*, n° 92 (2002), (United State of America) pp. 55-64.

SIKES, G. Desinfection and Sterilization. 2^a ed. London-Inglaterra: Chapman and hall, 2011, pp. 122.

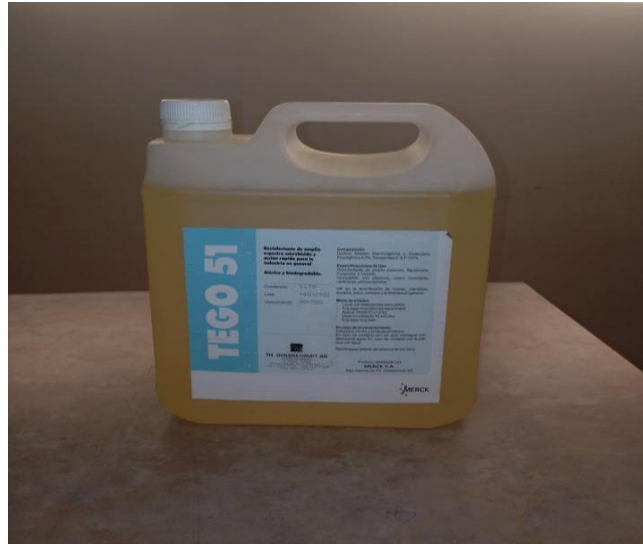
TORTORA, G. Microbiology an Introduction. 7^a ed. Chicago-Estados Unidos: The Benjamin/Cummings Publishing Company. 2012, pp. 564.

USP, Farmacopea de los Estados Unidos de América. Edición anual. Estados Unidos: Formulario Nacional, 2008, pp.542-546 (USP, 2008, págs. 542-546)

WILDBRELT, G. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. 5^a ed. Zaragoza-España: Acribia S.A. 2013, pp. 65.

ANEXOS

Anexo A: Fotografías: Evaluación microbiológica de la Sacheteadora Effytec



Fotografía 1: Desinfectante Tego 51



Fotografía 2: Sacheteadora EFFYTEC modelo HB – 152



Fotografía 3: Tolva de dosificación



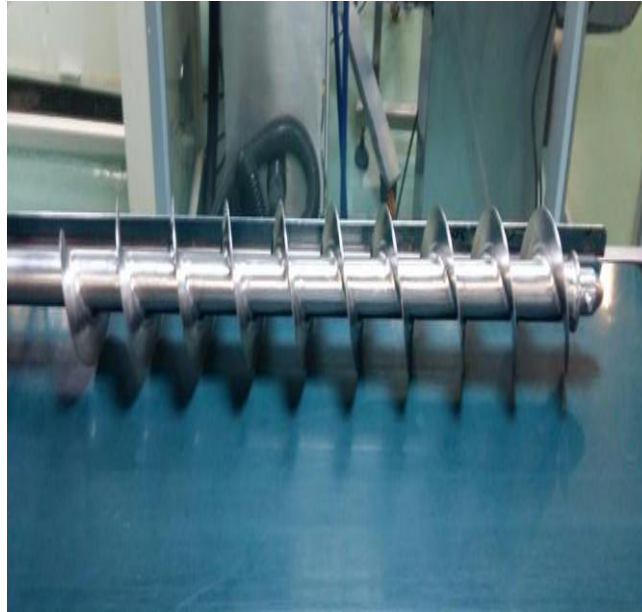
Fotografía 4: Tornillos de alimentación



Fotografía 5: Tolva



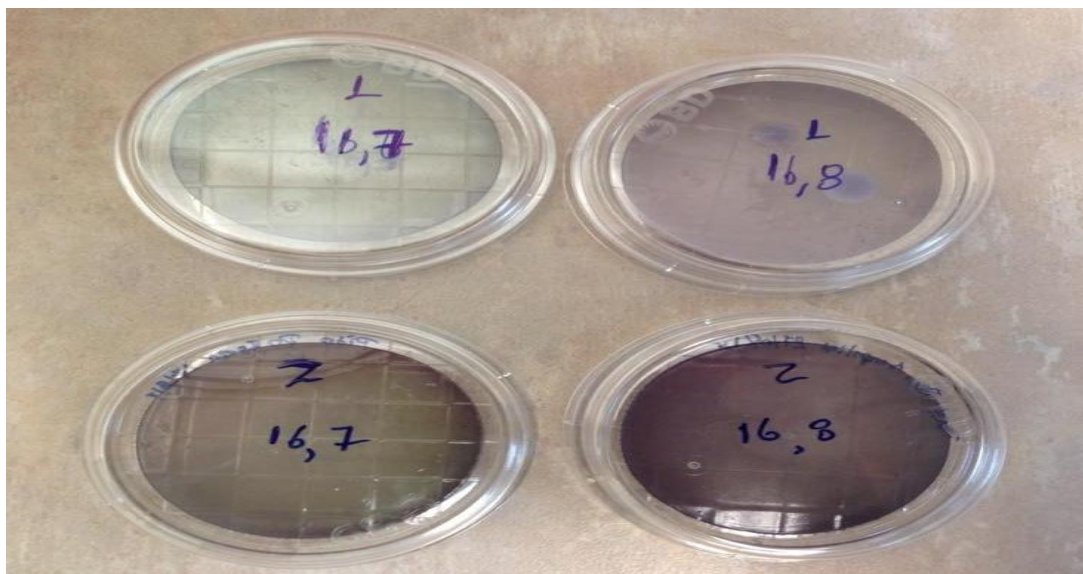
Fotografía 6: Alineadores



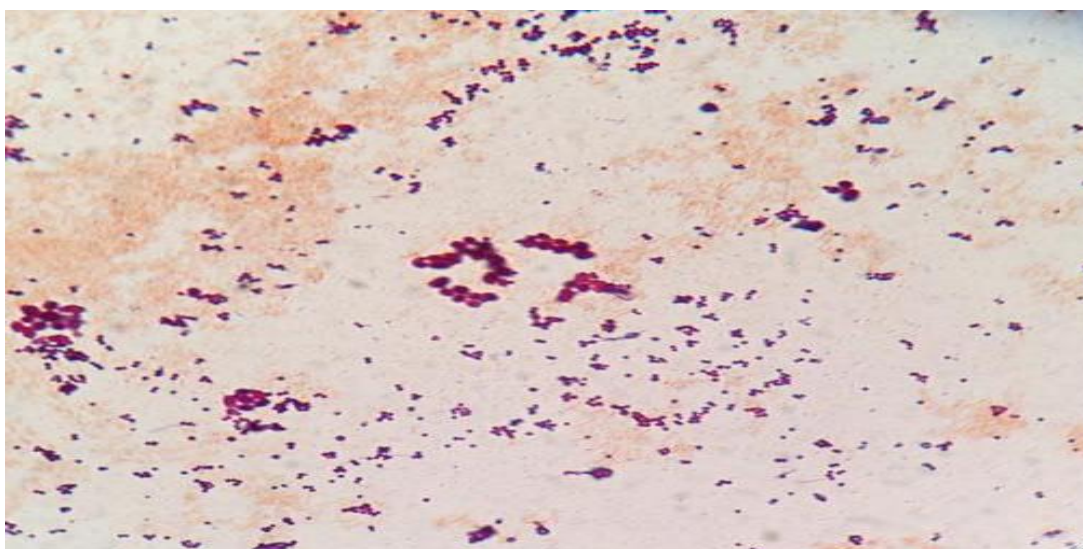
Fotografía 7: Tornillo de dosificación



Fotografía 8: Medios selectivos para identificación morfológica de microorganismos




Fotografía 9: Placas de contacto (RODAC)



Fotografía 10: Tinción Gram

Anexo B: Procedimiento Operativo Estándar para el Análisis Microbiológico de Equipos

| | | | |
|--|---|---------------|---------------------|
|  Ginsberg Ecuador S.A. | | | |
| Procedimiento Operativo Estándar | | N°: | AC-25-011-01 |
| | | Pág.: | 81 de 6 |
| Dpto.: | ASEGURAMIENTO DE CALIDAD | Anexos: | 2 |
| Área: | ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO | Vigencia: | 08 – 2014 |
| Tema: | ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS | Próxima. Rev: | 08 – 2016 |
| | | Reemplaza a: | AC-25-008-4 |

Preparado por:

Gabriela Villagomez
Analista Control de Calidad

Fecha

Firma

Revisado por:

Fernanda Guerra
Documentacion
Aseguramiento de Calidad

Fecha

Firma

Lilibeth Yanez
Jefe Control y Aseguramiento
de Calidad

Fecha

Firma

Aprobado por:

Margarita Perugachi
Directora Técnica

Fecha

Firma

Este es un documento confidencial propiedad de GINSBERG ECUADOR S.A.



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

82 de 114

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|-----|-------------------------------------|----|
| 1 | MARCO LEGAL | 83 |
| 2 | OBJETIVO..... | 31 |
| 3 | ALCANCE..... | 83 |
| 4 | RESPONSABLES | 83 |
| 4.1 | Otras Funciones concernientes..... | 83 |
| 5 | METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO..... | 31 |
| 5.1 | Definiciones y Abreviaciones | 83 |
| 5.2 | Requerimientos Generales. | 84 |
| 5.3 | Descripción del Procedimiento | 84 |
| 6 | REFERENCIAS | 85 |
| 7 | ANEXOS Y REGISTROS | 85 |
| 8 | HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS | 86 |
| 9 | OTROS | 86 |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

83 de 114

1 MARCO LEGAL

- Informe 32 de la Organización Mundial de la Salud.
- Reglamento de las Buenas Prácticas de Manufactura para laboratorios Farmacéuticos.

2 OBJETIVO

Comprobar que la limpieza de máquinas y piezas usadas en fabricación sea la correcta para que no genere una contaminación microbiológica no deseada.

3 ALCANCE

A todas las máquinas que se encuentren en contacto directo con el producto.

4 RESPONSABLES

| Función | Responsabilidad |
|---|---|
| Analista Microbiología | Crear y actualizar el POE/IT, y asegurar su vigencia. |
| Responsable Control de Calidad Microbiológico | Confirmar que el procedimiento cumpla con los requerimientos formales, internos y externos, bajo el criterio de Aseguramiento de Calidad. |
| Jefe de control de Calidad | Entrenar el procedimiento, cumplir y hacer cumplir lo descrito en el mismo. |

4.1 Otras Funciones concernientes

- Analista de microbiología: Realizar el análisis microbiológico de equipos
- Jefe de producción: coordinar con el analista de microbiología el cronograma de muestreo

5 METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO

5.1 Definiciones y Abreviaciones

| Término | Definición |
|---------|-------------------------|
| TSA | Agar Tripticasa de soya |
| SAB | Agar Sabouraud |
| CBS | Cabina de Bioseguridad |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

84de.114

5.2 Requerimientos Generales.

| Materiales y equipos | Reactivos |
|------------------------------------|--|
| Cajas petri estériles | Agar Tripticasa de soya (TSA) |
| Hisopos estériles | Agar Sabouraud (SAB) |
| Cabina de bioseguridad | Alcohol 70% |
| Material de vidrio estéril - tubos | Solución de suero fisiológico o agua peptona |
| Incubadoras | |

5.3 Descripción del Procedimiento

Tarea 1. Preparación de medios

| | |
|----------------------------------|---|
| Analista de microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Preparar y esterilizar los medios de cultivo de acuerdo a las instrucciones del fabricante.2. Introducir los medios de cultivo preparados al área de siembra y los mantiene a 40 - 45 °C hasta su utilización.3. Encender la cabina de bioseguridad y limpiar el área con alcohol al 70%4. Rotular las cajas petri con un marcador permanente con la fecha, con el tipo de medio que se va utilizar.5. Llenar las bases de las cajas petri con el medio de cultivo correspondiente (aprox. 20ml) hasta la solidificación dentro de la CBS.6. Incubar las cajas petri como blancos una para bacterias a 35-37°C durante 48 horas y una para hongos a 25°C por 5-7 días para verificar que no existan problemas con la esterilización y/o preparación de medios de cultivo.7. Utilizar TSA como medio de cultivo para bacterias y SAB para Hongos8. Guardar las cajas petri preparadas, al ambiente y protegidos de la luz por máximo 48 horas o en refrigeración de 2-8°C máx. por 8 días. Si se los ha guardado en refrigeración para su utilización se debe sacar de la refrigeradora unos 30min antes de su uso para que el medio de cultivo tome la temperatura ambiente. Si no ha utilizado estos medios en los ocho días hay que descartarlos.9. Preparar también tubos de ensayo que contengan 2 ml de agua peptona o de suero fisiológico, para el hisopado de los equipos. El número de tubos a usar depende de los puntos que se vaya a muestrear de cada equipo. |
|----------------------------------|---|

NOTA: Realizar el control de la limpieza de equipos según el cronograma establecido en el que consta el listado de equipos a ser muestreados (Ver Anexo I).



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

85 de 114

Tarea 2. Muestreo de los equipos

| | |
|----------------------------------|--|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Coordinar con producción la limpieza de los equipos de acuerdo al cronograma de muestreo.2. Determinar los puntos críticos del equipo (Ver Anexo II) y calcular el área de muestreo.3. Humedecer el hisopo con el suero fisiológico y proceder a hisopar las partes de la máquina a muestrearse, en algunos casos como en superficies lisas se ayuda de una plantilla plástica de 10x 10 cm² desinfectada previamente y coloca el hisopo en los tubos que contienen 5,0ml de suero fisiológico previamente esterilizados.4. Llevar las muestras al laboratorio microbiológico y proceder a sembrar en las cajas que contienen TSA y SAB respectivamente hisopando las muestras recogidas sobre las cajas con medios de cultivo.5. Proceder a incubar las muestras a 35-37⁰C para bacterias por 48 horas y a 25⁰C por 5-7 días para hongos. |
|----------------------------------|--|

NOTA: Para el muestreo debe llevar la vestimenta adecuada: mascarilla, guantes quirúrgicos.

Tarea 3. Resultados

| | |
|----------------------------------|--|
| Analista de microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Trascurridos los tiempos de incubación, proceder a la lectura de las cajas y al conteo total microbiano.2. En el caso de tener conteo, realizar una tinción Gram |
|----------------------------------|--|

6 REFERENCIAS

| POE / IT. | Título | Número de páginas |
|------------------|---------------|--------------------------|
| N/A | N/A | N/A |

7 ANEXOS Y REGISTROS

| Anexo No. / Registros No. | Título | Número de páginas |
|----------------------------------|---|--------------------------|
| Anexo 1 | CRONOGRAMA DEL MUESTREO MICROBIOLÓGICO PARA EQUIPOS | 1 |
| Anexo II | PUNTOS CRÍTICOS A MUESTREAR DE LOS EQUIPOS | 1 |
| FR-AC-am-015 | REGISTRO DE RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS | 1 |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

86de 114


8 HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha | Edición | Razón de cambio | Observaciones |
|--------------|----------------|------------------------|---|
| 03-2008 | 01 | Elaboración del POE | Ninguna |
| 06-2008 | 02 | Actualización del POE | Según normas ISO |
| 01-2010 | 03 | Actualización del POE | Ninguna |
| 01-2012 | 04 | Actualización del POE | Cambio de formato y código |
| 08-2014 | 05 | Actualización del POE | Cambio de formato, logo y código según GP-14-001-05 |

9 OTROS

No aplica

Anexo C: Procedimiento Operativo Estándar para Identificación Morfológica de Microorganismos

| | | | |
|--|--|---------------|---------------------|
|  Ginsberg Ecuador S.A. | | | |
| Procedimiento Operativo Estándar | | Nº.: | AC-25-023-01 |
| | | Pág.: | 87 de 6 |
| Dpto.: | ASEGURAMIENTO DE CALIDAD | Anexos: | 1 |
| Área: | ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO | Vigencia: | 08 – 2014 |
| Tema: | IDENTIFICACION MORFOLOGICA DE MICROORGANISMOS | Próxima. Rev: | 08 – 2016 |
| | | Reemplaza a: | AC-25-021-2 |

Preparado por:

Gabriela Villagomez
Analista Control de Calidad

Fecha

Firma

Revisado por:

Fernanda Guerra
Documentacion
Aseguramiento de Calidad

Fecha

Firma

Lilibeth Yanez
Jefe Control y Aseguramiento
de Calidad

Fecha

Firma

Aprobado por:

Margarita Perugachi
Directora Técnica

Fecha

Firma

Este es un documento confidencial propiedad de GINSBERG ECUADOR S.A.



Ginsberg Ecuador S.A.

| | | |
|--|--------------|---------------------|
| PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS | No.: | AC-25-011-01 |
| | Pág.: | 88 de 6 |

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|-----|-------------------------------------|----|
| 1 | MARCO LEGAL | 83 |
| 2 | OBJETIVO..... | 31 |
| 3 | ALCANCE..... | 83 |
| 4 | RESPONSABLES | 83 |
| 4.1 | Otras Funciones concernientes..... | 83 |
| 5 | METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO..... | 31 |
| 5.1 | Definiciones y Abreviaciones | 83 |
| 5.2 | Requerimientos Generales. | 84 |
| 5.3 | Descripción del Procedimiento | 84 |
| 6 | REFERENCIAS | 85 |
| 7 | ANEXOS Y REGISTROS | 85 |
| 8 | HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS | 86 |
| 9 | OTROS | 86 |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

89 de 6

1. MARCO LEGAL

- Informe 32 de la Organización Mundial de la Salud (OMS)
- Reglamento de las BPM para laboratorios farmacéuticos

2. OBJETIVO

Identificar mediante características macroscópicas y microscópicas la morfología de microorganismos crecidos en medios universales para la determinación de posibles patógenos.

3. ALCANCE

Se aplica a todas las cepas de microorganismos observadas después de incubación en medios universales de las muestras de todos los productos elaborados en Ginsberg Ecuador S.A.

4. RESPONSABLES

| Función | Responsabilidad |
|---|---|
| Autor | Crear y actualizar el POE/IT, y asegurar su vigencia. |
| Responsable Control de Calidad Microbiológico | Confirmar que el procedimiento cumpla con los requerimientos formales, internos y externos, bajo el criterio de Aseguramiento de Calidad. |
| Jefe de control de Calidad | Entrenar el procedimiento, cumplir y hacer cumplir lo descrito en el mismo. |

4.1 Otras Funciones concernientes

Analista de microbiología: Realizar la identificación de microorganismos



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

90 de 6

5. METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO

5.1 Definiciones y Abreviaciones

| Término | Definición |
|-------------------|---|
| TSA | Agar de Soya Trypticase |
| SAB | Agar Sabouraud Dextrosa |
| Medios selectivos | Son medios utilizados para favorecer el crecimiento de ciertas bacterias contenidas en una población polimicrobiana. El fundamento de estos medios consiste en facilitar nutricionalmente el crecimiento de una población microbiana específica |

5.2 Requerimientos Generales.

| Materiales y equipos | Reactivos |
|----------------------|-------------------------|
| Incubadoras | Agar Bismuto de sulfito |
| Mechero Bunsen | Agar Manitol |
| Asas de siembra | Agar MacConkey |
| Equipo de protección | Agar Verde Brillante |

5.3 Descripción del Procedimiento

Tarea 1 Análisis microscópico de las colonias

| | |
|----------------------------------|---|
| Analista de microbiología | <ol style="list-style-type: none">Posterior a la incubación de las muestras de producto en TSA a 37°C por 48 horas y en medio de cultivo SAB por 7 días a 25°C, observar el crecimiento de colonias sobre dichos medios universalesTomar una muestras de la colonia y analizarla mediante tinción Gram y determinar si se trata de bacterias Gram positivas o Negativas siguiendo el procedimiento descrito en el POE: AC-25-017-01Observar al microscopio la morfología celular de la colonia (bacilos, cocos, bastones, espirales) y agrupamiento (diplococos, racimos, rosarios). Así como la presencia o ausencia de <i>estructuras especiales</i>: flagelos, endosporas. |
|----------------------------------|---|



Ginsberg Ecuador S.A.

| | | |
|--|--------------|---------------------|
| PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS | No.: | AC-25-011-01 |
| | Pág.: | 91 de 6 |

Tarea 2. Siembra de las colonias en medios selectivos

| | |
|----------------------------------|---|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Dependiendo del Gram de las colonias analizadas (Ver Anexo 1), proceder a preparar los medios selectivos según instrucciones del proveedor2. Tomar una colonia de la caja petri con asa previamente esterilizada al rojo vivo3. Bajo mechero estriar en medios selectivos para identificar morfología con el crecimiento de los microorganismos.4. Incubar los medios selectivos, si se trata de bacterias a 37°C por 48 horas y para hongos a 25°C por 7 días. |
|----------------------------------|---|

Tarea 3. Resultados

| | |
|----------------------------------|---|
| Analista de microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Observar el crecimiento de colonias en los medios selectivos2. Identificar en las colonias la forma, el color la consistencia y el borde3. Comparar las características encontradas en los medios de cultivo, con la tabla Identificación de colonias microbianas (Anexo 1) para descartar que se trate de microorganismos patógenos.4. De sospechar que se trata de microorganismos patógenos, corroborar la especie mediante pruebas bioquímicas, antes de emitir un reporte. |
|----------------------------------|---|

6 REFERENCIAS

| POE / IT. | Título | Número de páginas |
|---------------------|---|--------------------------|
| AC-25-017-01 | IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS POR TINCIÓN GRAM | 5 |

7 ANEXOS Y REGISTROS

| Anexo No. / Registros No. | Título | Número de páginas |
|----------------------------------|---|--------------------------|
| Anexo I | IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS MICROBIANAS | 1 |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

92 de 6


8 HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha | Edición | Razón de cambio | Observaciones |
|--------------|----------------|------------------------|---|
| 2011-06 | 01 | Elaboración del POE | Según normas ISO |
| 05-2012 | 02 | Actualización del POE | Cambio de formato y código |
| 08-2014 | 03 | Actualización del POE | Cambio de formato, logo y código según GP-14-001-05 |

9 OTROS

No aplica

Anexo D: Procedimiento Operativo Estándar para Identificación de microorganismos por Tinción Gram

| | | | |
|--|---|---------------|---------------------|
|  Ginsberg Ecuador S.A. | | | |
| Procedimiento Operativo Estándar | | Nº.: | AC-25-017-01 |
| | | Pág.: | 93 de 5 |
| Dpto.: | ASEGURAMIENTO DE CALIDAD | Anexos: | 1 |
| Área: | ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO | Vigencia: | 08 – 2014 |
| Tema: | IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS POR TINCION GRAM | Próxima. Rev: | 08 – 2016 |

Preparado por:

Gabriela Villagomez
Analista Control de Calidad

Fecha

Firma

Revisado por:

Fernanda Guerra
Documentacion
Aseguramiento de Calidad

Fecha

Firma

Lilibeth Yanez
Jefe Control y Aseguramiento
de Calidad

Fecha

Firma

Aprobado por:

Margarita Perugachi
Directora Técnica

Fecha

Firma

Este es un documento confidencial propiedad de GINSBERG ECUADOR S.A.



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

94 de 114

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|-----|-------------------------------------|----|
| 1 | MARCO LEGAL | 83 |
| 2 | OBJETIVO..... | 31 |
| 3 | ALCANCE..... | 83 |
| 4 | RESPONSABLES | 83 |
| 4.1 | Otras Funciones concernientes..... | 83 |
| 5 | METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO..... | 31 |
| 5.1 | Definiciones y Abreviaciones | 83 |
| 5.2 | Requerimientos Generales. | 84 |
| 5.3 | Descripción del Procedimiento | 84 |
| 6 | REFERENCIAS | 85 |
| 7 | ANEXOS Y REGISTROS | 85 |
| 8 | HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS | 86 |
| 9 | OTROS | 86 |



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

95 de 114

1. MARCO LEGAL

- Informe 32 de la Organización Mundial de la Salud (OMS)
- Reglamento de las BPM para laboratorios farmacéuticos

2. OBJETIVO

Describir el procedimiento correcto para la utilización del equipo de tinción Gram-Color, marca MERCK y clasificar algunas especies bacterianas en Gram positivas o Gram negativas de acuerdo a la tinción de Gram.

3. ALCANCE

A todos los análisis microbiológicos que presenten crecimiento microbiano y que sea necesario identificarlos con ayuda de una tinción Gram.

4. RESPONSABLES

| Función | Responsabilidad |
|---|---|
| Autor | Crear y actualizar el POE/IT, y asegurar su vigencia. |
| Responsable Control de Calidad Microbiológico | Confirmar que el procedimiento cumpla con los requerimientos formales, internos y externos, bajo el criterio de Aseguramiento de Calidad. |
| Jefe de control de Calidad | Entrenar el procedimiento, cumplir y hacer cumplir lo descrito en el mismo. |

4.1 Otras Funciones concernientes

Analista de microbiología: Realizar la identificación por tinción en caso de crecimiento de colonias bacterianas en las muestras de producto analizadas.



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

96 de 114

5. METODOLOGÍA / PROCEDIMIENTO

5.1 Definiciones y Abreviaciones

| Término | Definición |
|------------------------|--|
| Tinción de Gram | Es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color moradas y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa o rojo. |

5.2 Requerimientos Generales.

| Materiales y equipos | Reactivos |
|--------------------------------|-----------------------------|
| Portaobjetos | Solución 1: violeta cristal |
| Microscopio | Solución 2: de lugol |
| Mechero bunsen | Solución 3: decolorante |
| Piceta de agua desmineralizada | Solución 4: de safranina |

5.3 Descripción del Procedimiento

Tarea 1 Análisis de las muestras

| | |
|----------------------------------|---|
| Analista de microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Aplicar la muestra a examinar sobre un portaobjetos, con ayuda de un asa que ha estado al rojo vivo, mezclar directamente o con 1 ó 2 gotas de solución fisiológica de cloruro de sodio y extender2. Secar al aire y proceder a la fijación por calor, para lo que se pasa 3 veces, el portaobjetos por la llama de un mechero Bunsen. Dejar enfriar3. Cubrir completamente el portaobjetos con la solución 1 (violeta cristal), teñir durante 1 minuto verter el líquido sobrante.4. Lavar brevemente con solución 2 (solución de lugol) para eliminar los restos.5. Cubrir el portaobjetos completamente con solución 2 (solución de lugol), y dejar actuar durante 1 minuto y desechar el exceso.6. Cubrir el portaobjetos aproximadamente durante 10-15 segundos con la solución 4 (solución decolorante), hasta eliminar el colorante anterior.7. Cubrir el portaobjetos con solución 5 (solución de safranina) durante 1 minuto.8. Enjuagar cuidadosamente con agua destilada durante 5 segundos.9. Secar, y observar al microscopio a 100X. |
|----------------------------------|---|



Ginsberg Ecuador S.A.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR

No.:

AC-25-011-01

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EQUIPOS

Pág.:

97 de 114

Tarea 2. Interpretación de resultados

| | |
|----------------------------------|--|
| Analista de Microbiología | <ol style="list-style-type: none">1. Las células de bacterias Gram positivas se tiñen de color púrpura y las Gram negativas de color entre rosado y rojo. (Ver Anexo I)2. Una vez identificado el Gram de las colonias analizadas, seguir con el procedimiento para identificar microorganismos en medios selectivos. |
|----------------------------------|--|

6 REFERENCIAS

| POE / IT. | Título | Número de páginas |
|------------------|---------------|--------------------------|
| N/A | N/A | N/A |

7 ANEXOS Y REGISTROS

| Anexo No. / Registros No. | Título | Número de páginas |
|----------------------------------|--|--------------------------|
| Anexo I | TINCIÓN GRAM DE BACTERIAS VISTAS AL MICROSCOPIO | 1 |

8 HISTORIA - CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha | Edición | Razón de cambio | Observaciones |
|--------------|----------------|------------------------|---|
| 03-2008 | 01 | Elaboración del POE | Ninguna |
| 06-2008 | 02 | Actualización del POE | Según normas ISO |
| 01-2011 | 03 | Actualización del POE | Cambio de formato y código |
| 06-2012 | 04 | Actualización del POE | Cambio de formato y código |
| 08-2014 | 05 | Actualización del POE | Cambio de formato, logo y código según GP-14-001-05 |

9 OTROS

No aplica